REVISTA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO

Late
4 no. 1 recd
14/6/62

20 FEB 1963
C.S.A. 121

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, vol. 3, n.° 6, p. 263-308 - Índices ★ Nov./Dez., 1961

O caminho certo na terapia da amebíase...

DIANTIL

(Clorbetamida)

Amebicida não-metálico...

de ação intensa...

com doses reduzidas

"Diantil é um amebicida sintético não-metálico que se caracteriza por grande atividade e baixa toxicidade". *E. W. Dennis e D. A. Berberian, Antibiotics & Chemotherapy, 6:554, maio, 1954.*

"O que mais sobreleva notar, no tratamento com Diantil, é sua perfeita tolerância." *D. T. Lucena e R. J. Marques, Revista Brasileira de Medicina, vol. XIII, n.º 11, nov. 1955.*

Comprimidos contendo 0,5 g de N-(2,4-diclorobenzil)-N-(2-hidroxietil) dicloroacetamida. Caixas de 24

DIANTIL Marca registrada é um produto **WINTHROP**

Distribuidores: The Sydney Ross Co., Av. Rio Branco, 251, 11.º and., Rio de Janeiro

DI 1 - 60

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(6):263-266, novembro-dezembro 1961

CDU 616.24-002.5
:576.8.077

REAÇÃO DE TURVAÇÃO DO "OCTAB" EM CASOS DE TUBERCULOSE PULMONAR

Celeste Fava Netto [1], Vicente Amato Neto [2], Radyr de Queiroz [3] e Henrique Elkis [4]

RESUMO

Utilizando o sôro de 29 pacientes com tuberculose pulmonar, efetuaram os autores a reação de turvação do "Octab". As amostras de sangue foram, em todos os casos, obtidas antes de ter sido iniciado o tratamento específico.

Os resultados da prova, que tem sido indicada para avaliação da atividade de diferentes afecções, evidenciaram valores alterados em relação a 79,4% dos doentes. As cifras anormais variaram de 115 a 171 unidades de turvação.

Lembraram os autores que o teste laboratorial em questão poderá ser útil no contrôle de cura da tuberculose pulmonar e sugeriram a realização de investigações sôbre o assunto.

INTRODUÇÃO

Para a apreciação da atividade de diversas afecções, são usadas na prática várias modalidades de provas laboratoriais. Êsses mesmos exames, em geral, servem também para a avaliação das modificações evolutivas, decorrentes da instituição das medidas terapêuticas convenientes. Como essas finalidades são bastante importantes sob o ponto de vista prático, permanentemente estão sendo desenvolvidos estudos visando revelar testes cada vez mais eficientes e, se possível, de execução mais simples.

A reação de turvação do "Octab" constitui prova que vem sendo usada para satisfazer às intenções referidas e os resultados conseguidos em pesquisas sôbre o assunto proporcionarão, certamente, informes sôbre o seu real valor, no que concerne a diferentes entidades mórbidas. Por exemplo, em nosso meio, Cossermelli & col.[1] e Décourt & col.[2] efetuaram investigações dessa ordem em relação à artrite reumatóide e à febre reumática, respectivamente.

Considerando que, quanto à tuberculose, é de muita utilidade a constatação da atividade da infecção, assim como das subseqüentes alterações motivadas pela terapêutica específica, julgamos oportuno e interessante realizar o presente estudo, destinado a revelar aspectos referentes ao comportamento da reação do "Octab".

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos neste estudo o sôro de 29 pacientes com tuberculose pulmonar devidamente confirmada. As amostras de sangue, colhidas em jejum, foram obtidas antes de ser iniciado o tratamento específico. Todos os doentes, adultos, de ambos os sexos, sem outras afecções importantes, estavam inter-

Fac. Med. Univ. São Paulo — Clínica de Doenças Tropicais e Infectuosas (Diretor: Prof. João Alves Meira) e Departamento de Microbiologia e Imunologia (Diretor: Prof. Carlos da Silva Lacaz).
(1) Docente livre de Microbiologia e Imunologia.
(2) Docente livre de Clínica de Doenças Tropicais e Infectuosas.
(3) Diretor clínico da Associação dos Sanatórios Populares "Campos do Jordão".
(4) Médico do laboratório da Clínica de Doenças Tropicais e Infectuosas.

QUADRO

Reação de turvação do "Octab" em casos de tuberculose pulmonar.

Caso	Tempo de duração da doença antes da internação	Caracterização do comprometimento pulmonar	Resultado (unidades de turvação)
1 — M.P.	4 meses	Tuberculose moderadamente avançada, mista, escavada à direita.	127
2 — A.C.F. ...	8 anos	Tuberculose muito avançada, mista, multiescavada à esquerda.	124
3 — A.B.	3 anos	Tuberculose moderadamente avançada, exsudativa, escavada à esquerda. Pleuris exsudativo.	118
4 — J.J.G.	4 meses	Tuberculose mínima produtiva.	130
5 — J.J.F.	3 anos	Tuberculose muito avançada, produtiva, multiescavada em ambos os lados.	118
6 — H.S.	2 meses	Tuberculose moderadamente avançada, mista, escavada à direita.	132
7 — J.A.P.	8 meses	Tuberculose muito avançada, mista, escavada à esquerda.	115
8 — J.V.	9 meses	Tuberculose moderadamente avançada, produtiva, escavada em ambos os lados.	149
9 — W.L.B. ..	4 meses	Tuberculose mínima produtiva.	130
10 — J.S.F.	3 meses	Tuberculose moderadamente avançada, mista, escavada à direita.	143
11 — I.P.S.	9 meses	Tuberculose muito avançada, mista, escavada à direita.	168
12 — A.F.	2 anos	Tuberculose muito avançada, produtiva, multiescavada à direita.	124
13 — A.J.C. ...	1 ano	Tuberculose muito avançada, mista, escavada à direita.	98
14 — U.C.B. ...	4 anos	Tuberculose muito avançada, exsudativa, multiescavada à direita.	98
15 — A.M.	1 ano	Tuberculose muito avançada, mista, escavada à direita.	124
16 — G.A.S. ...	2 anos	Tuberculose muito avançada, exsudativa, multiescavada à direita.	130

QUADRO (*continuação*)

Caso	Tempo de duração da doença antes da internação	Caracterização do comprometimento pulmonar	Resultado (unidades de turvação)
17 — J.P.	5 meses	Tuberculose moderadamente avançada, produtiva, escavada à direita.	171
18 — R.O.	12 anos	Tuberculose muito avançada, produtiva, multiescavada em ambos os lados.	84
19 — W.G.	2 anos	Tuberculose moderadamente avançada, mista, escavada à direita. Mal de Pott.	118
20 — C.P.	2 anos	Tuberculose muito avançada, produtiva, escavada em ambos os lados.	121
21 — G.A.F. ...	1 ano	Tuberculose muito avançada, mista, escavada à esquerda.	115
22 — O.R.S. ...	4 meses	Tuberculose muito avançada, mista, multiescavada em ambos os lados.	124
23 — A.A.	3 meses	Tuberculose moderadamente avançada, mista, escavada à direita.	135
24 — M.T.S. ...	1 ano	Tuberculose muito avançada, mista, escavada em ambos os lados.	110
25 — M.R.	4 anos	Tuberculose muito avançada, mista, multiescavada em ambos os lados.	141
26 — L.L.G. ...	1 ano	Tuberculose muito avançada, exsudativa, escavada em ambos os lados.	104
27 — N.S.	7 meses	Tuberculose muito avançada, exsudativa, escavada à direita.	158
28 — V.N.	1 ano	Tuberculose muito avançada, exsudativa, escavada à direita.	158
29 — L.S.	4 anos	Tuberculose muito avançada, mista, escavada à esquerda. Empiema tuberculoso à direita.	90

nados em hospitais da Associação dos Sanatórios Populares "Campos do Jordão". Cuidadoso exame clínico e adequadas apreciações laboratoriais e radiológicas determinaram o tipo de acometimento devido à infecção.

A turvação das proteínas do sôro, por sal quaternário de amônio, foi determinada segundo a técnica de JACOX [3], pelo emprêgo do cloreto de octadecil-dimetilbenzilamônio ("Octab"), que reage com o sôro diluído, a um pH de 6,8, produzindo turvação que é medida fotomètricamente. Os valores normais, quanto a êste teste, foram original-

mente admitidos como sendo de 50 a 100 unidades de turvação; no entanto, DÉCOURT & col.[2] estenderam o limite normal a 110 unidades e aceitamos êste critério interpretativo.

RESULTADOS

No quadro apresentado estão registrados os resultados obtidos, assim como outros dados relacionados com os casos estudados.

Valores considerados normais ocorreram sòmente em relação a seis casos (20,6%). Quanto aos outros, verificamos alterações, que se traduziram por números variáveis de 115 a 171 unidades de turvação.

COMENTÁRIOS

As verificações referidas permitem várias considerações, abaixo enumeradas.

1 — A percentagem de casos em relação aos quais ocorreram resultados compreendidos na normalidade foi, conforme já citamos, de 20,6%. Esta constatação poderá ser valiosa, na prática, quando forem suficientemente conhecidos os valores correspondentes a outras pneumopatias, o que permitirá conveniente juízo comparativo.

2 — Não houve nítida relação entre as taxas registradas e o tipo, intensidade do acometimento e a duração da doença concernentes aos casos investigados, pelo menos a julgar pelos pacientes considerados; é possível que investigação mais ampla modifique esta maneira de encarar a questão.

3 — Considerando que 79,4% das reações demonstraram cifras superiores às normais, é provável que o exame laboratorial em aprêço seja capaz de prestar útil colaboração no sentido de ser avaliada a evolução da infecção, após o início do tratamento específico. Convém salientar que já iniciamos investigações visando colaborar quanto ao esclarecimento de tal aspecto da questão.

4 — É possível que afecções associadas tenham sido responsáveis por alterações referentes aos resultados. A cuidadosa avaliação prévia efetuada não evidenciou tais distúrbios que, porém, poderiam estar presentes, sendo revelados por apreciação mais minuciosa. De qualquer forma, esta consideração, perfeitamente oportuna, não deve ter sido válida quanto à generalidade dos pacientes estudados.

As vantagens decorrentes dos progressos recentemente concretizados no setor laboratorial, precisam ser avaliadas e utilizadas com a maior amplitude possível. Esta nossa investigação pretende tão sòmente constituir contribuição em relação a tal campo de conhecimentos.

SUMMARY

"Octab" turbidity reaction in cases of pulmonary tuberculosis.

The reaction of human serum with a quaternary ammonium salt ("Octab") was made in the sera of 29 pulmonary tuberculosis patients before any treatment. This test has been indicated for the estimation of activity in some affections.

In this research high values were found in 78.4% of the patients, and the title ranged from 115 to 171 units.

The authors thought that this test may prove to be good in the follow-up of the patients treatment. They suggested that a new study of this matter should be undertaken.

REFERÊNCIAS

1. COSSERMELLI, W.; FAVA NETO, C. & GIANNINI, S. D. — Provas para a avaliação da atividade na artrite reumatóide. I. Reação das proteínas séricas com um sal quaternário de amônio (Octab). Rev. paulista Med. 49: 264-269, 1956.

2. DÉCOURT, L. V.; COSSERMELLI, W.; FAVA NETO, C.; FERRI, R. G.; PAPALÉO NETO, M. & GIANNINI, S. D. — Estudo de alguns aspectos do sôro na doença reumática ativa. Rev. Hosp. Clín. 7:311-322, 1957.

3. JACOX, R. F. — The reaction of human serum and component proteins of human plasma with a quaternary ammonium salt, Octab. J. Lab. & clin. Med. 37:721-727, 1951.

Recebido para publicação em 5 dezembro 1961.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(6):267-270, novembro-dezembro 1961

CDU 616.34-053.2-008.314.4
:616.981.48

DIARRÉIAS INFANTIS POR COLIBACILOS ENTEROPATOGÊNICOS

Estudos preliminares sôbre a ocorrência de certos grupos e tipos sorológicos em São Paulo

L. R. Trabulsi, A. Manissadjan, H. A. de Oliveira Penna, R. Liberatore, L. Duailibe, B. de Camargo e E. S. Peixoto

RESUMO

Os autores pesquisaram os colibacilos 026:B6, 055:B5, 086:B7, 0111:B4, 0112:B11, 0119:B14, 0124:B17, 0125:B15, 0126:B16, 0127:B8 e 0128:B12 em 117 crianças da Cadeira de Pediatria do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (Pronto Socorro e Ambulatório), sendo 80 com diarréia aguda e 37 sem perturbações digestivas ou sinais de infecção. Em 17 crianças do primeiro grupo e em 3 do segundo, foram encontrados colibacilos enteropatogênicos. Os seguintes grupos sorológicos foram isolados: 026:B6, 055:B5, 0111:B4, 0119:B14 e 0126:B16, sendo que os dois últimos em freqüência relativamente elevada. A distribuição dos tipos sorológicos foi, em linhas gerais, a mesma mencionada por autores estrangeiros.

INTRODUÇÃO

Aceita-se que os colibacilos dos grupos antigênicos 026:B6, 055:B5, 086:B7, 0111:B4, 0112:B11, 0119:B14, 0124:B17, 0125:B15, 0126:B16, 0127:B8 e 0128:B12 são enteropatogênicos e que dentro de cada um dêstes grupos, certos tipos são mais freqüentes que outros (Edwards & Ewing [3], Ewing & col.[4]).

Não obstante, os trabalhos realizados em nosso meio (Taunay & col.[7, 8], Costa [2]), referem-se apenas aos grupos 026:B6, 055:B5, 086:B7, 0111:B4 e 0127:B8, e não mencionam quais os tipos sorológicos pertencentes aos grupos OB isolados. Diante disto julgamos ser de interêsse a publicação do presente trabalho, no qual pesquisamos todos os colibacilos aceitos como enteropatogênicos e efetuamos a tipagem sorológica completa daqueles encontrados.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudamos dois grupos de crianças, ambos da Cadeira de Pediatria do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (Pronto Socorro e Ambulatório), tôdas as crianças com menos de 2 anos e sem história recente de medicação por antibióticos. O primeiro grupo era constituído por 80 crianças com diarréia aguda, de diferentes graus de intensidade, e o segundo considerado como grupo de crianças normais era constituído por 37 crianças que vieram ao Pronto Socorro e Ambulatório por diferentes razões, mas sem apresentarem perturbações digestivas ou sinais de infecção.

As fezes, obtidas após evacuação espontânea ou provocada pela aplicação de supositório de glicerina, foram semeadas diretamente em ágar azul de metileno eosina (EMB-Ágar Difco) e em ágar SS (SS ágar-Difco). Após incubação a 37°C durante 24 horas,

Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, Departamento de Microbiologia e Imunologia (Diretor: Prof. C. S. Lacaz) e Clínica Pediátrica do Hospital das Clínicas (Serviço do Prof. P. Alcântara).

Trabalho realizado com auxílio da Companhia Mineira de Alimentação.

10 colônias "lactose positivas" da placa do primeiro meio foram transferidas para ágar-inclinado (Blood Agar Base-Difco) e número variável de colônias "lactose-negativas", por acaso existentes em ambos os meios, foram transferidas para tubos de açúcar-tríplice (Triple Sugar Iron Agar-Difco). O crescimento dos tubos de ágar-inclinado e dos tubos de açúcar-tríplice inteiramente acidificados foram usados para o estudo sorológico e bioquímico dos colibacilos, procedendo-se do seguinte modo:

1) aglutinação em lâmina do crescimento de cada um dos tubos em soros polivalentes OB (OBI, contendo aglutininas para os colibacilos 026:B6, 055:B5, 0111:B4, 0112:B11, 0127:B8 e OBII para os colibacilos 086:B7, 0119:B14, 0124:B17, 0125:B15, 0126:B16 e 0128:B12);

2) aglutinação em lâmina com soros monovalentes O e OB, usando-se antígenos tratados e não tratados pelo calor;

3) aglutinação em tubo, de parte das amostras isoladas, usando-se soros O e OB;

4) identificação bioquímica de acôrdo com os métodos descritos por KAUFFMANN [6].

Utilizamos o crescimento dos tubos de açúcar tríplice acidificados sòmente na base para a identificação de Shigelas e salmonelas pelos métodos usuais, tendo-se em vista também a detecção dos colibacilos 0112 e 112c (*Shigella guanabara*) e 0124:B17.

Os soros polivantes OB e alguns dos monovalentes foram preparados e padronizados por nós, de acôrdo com os métodos descritos por EDWARDS & EWING [3]. Os demais soros foram obtidos das Casas Difco e Behring.

Findos os estudos mencionados, as amostras foram trazidas para o Communicable Disease Center, Atlanta, Geórgia, U.S.A., onde, no laboratório de *E. coli*, repetimos os estudos anteriormente feitos e completamos a tipagem sorológica de acôrdo com EWING & col.[5]. Entretanto, o estado de rugosidade de algumas amostras não permitiu a determinação dos antígenos O e K, e por esta razão foram desprezados.

RESULTADOS

Colibacilos enteropatogênicos foram encontrados em 17 das 80 crianças portadoras de diarréia aguda e em 3 das 37 crianças "normais" (Quadro I).

No Quadro II verifica-se a distribuição dos diferentes grupos e tipos sorológicos dos colibacilos enteropatogênicos encontrados tanto nas crianças doentes como nas "normais". O colibacilo 026:B6:H11 foi isolado de uma criança com diarréia e de duas "normais". De modo semelhante, o colibacilo 0126:B16:H2 foi isolado de uma criança "normal" e de outra com diarréia. Os demais colibacilos foram isolados sòmente de crianças com diarréia. Os colibacilos 0111:B4:H2 e 0119:B14:H6 foram isolados 5 vêzes cada, e os colibacilos 026:B6:I, 055:B5:H6, 055:B5:H32, 0111:B4:I e 0126:B16:H27 uma vez cada um.

QUADRO I

Incidência de colibacilos enteropatogênicos entre 117 crianças da Cadeira de Pediatria do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (Pronto Socorro e Ambulatório).

Casos	Nº	*Coli* enteropatogênico			
		Presente		*Ausente*	
		Nº	%	Nº	%
Diarréicos	80	17	21,2	62	78,8
"Normais"	37	3	8,1	35	91,8

QUADRO II

Distribuição sorológica dos colibacilos enteropatogênicos encontrados em 20 crianças da Cadeira de Pediatria do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (Pronto Socorro e Ambulatório).

Antígenos			*Diarréicos*	*Normais*	*Total*
O	K	H			
26	B6	I	1	—	1
		11	1	2	3
55	B5	6	1	—	1
		32	1	—	1
111	B4	1	1	—	1
		2	5	—	5
119	B14	6	5	—	5
126	B16	2	1	1	2
		27	1	—	1
Total			17	3	20

I = imóvel

COMENTÁRIOS

A elevada freqüência de colibacilos enteropatogênicos em crianças com diarréia é fato estabelecido na literatura. A incidência de 21% encontrada por nós está em tôrno dos valores assinalados por autores que estudaram material semelhante (revisão de BRAUN [1]).

O encontro do colibacilo 026:B6 em duas crianças sem perturbações digestivas ou sinais de infecção, e do 0126:B16 em uma, não tem maior significado por razões evidentes. Merece maior destaque o encontro dos colibacilos 0119:B14 e 0126:B16, os quais, a julgar pelos resultados do presente trabalho, parecem ser freqüentes. Outros estudos são necessários para avaliarmos sôbre a ocorrência dos colibacilos ainda não isolados em nosso meio.

A distribuição dos tipos sorológicos encontrada por nós foi, em linhas gerais, a mesma mencionada por autores estrangeiros (revisão de EWING & col.[4]).

SUMMARY

Infantile diarrheae by enteropathogenic bacilli: preliminary studies on the occurrence of certain groups and serologic types in São Paulo.

The Authors examined the feces of 80 children with acute diarrhea and 37 without symptoms of digestive diseases or infection for the presence of enteropathogenic *E. coli* 026:B6, 055:B5, 086:B7, 0111:B4, 0112:B11, 0119:B14, 0124:B17, 0125:B15, 0126:B16, 0127:B8 and 0128:B12.

Seventeen children of the first group and 3 of the second were infected and the following serological groups were isolated: 026:B6, 055:B5, 0111:B4, 0119:B14 and 0126:B16. The distribution of the serological types found in the present investigation was in general the same as mentioned by foreign Authors.

AGRADECIMENTOS

Os Autores agradecem ao Dr. W. H. Ewing a permissão para usar o seu laboratório, bem como a orientação para a tipagem sorológica dos colibacilos isolados.

REFERÊNCIAS

1. BRAUN, O. H. — Die Epidemiologie der Säuglings-enterites (*In* ADAM, A., ed. — Säuglings-enterites. Stuttgart, George Thieme, 1956. p. 83-109).

2. COSTA, C. A. — *Escherichia coli* na etiologia da diarréia aguda da criança. Bol. Inst. Puer. Univ. Brasil **16**:6-19, 1959.

3. EDWARDS, P. R. & EWING, W. H. — Identification of Enterobacteriaceae. Minneapolis, Burgess, 1957.

4. EWING, W. H.; TATUM, H. W. & DAVIS, B. R. — The occurrence of *Escherichia coli* serotypes assaiated with diarrheal disease in the United States. Pub. Health Laboratory **15**: 118-138, 1957.

5. EWING, W. H.; TATUM, H. W.; DAVIS, B. R. & REAVIS, R. W. — Studies on the serology of the *Escherichia coli* groups. Communicable Disease Center (Atlanta, Georgia). Monograph, 1956.

6. KAUFFMANN, F. — Enterobacteriaceae. Copenhagen, Ejnar Munksgaard, 1954.

7. TAUNAY, A. E.; BICUDO, J. C. S.; CORRÊA, A. & PEIXOTO, E. S. — Estudo bacteriológico da diarréia do recém-nascido. Hospital, Rio de Janeiro **49**:625-634, 1956.

8. TAUNAY, A. E.; MARTINS, H.; TOPOROWSKAY, J.; TOLEDO, L. A. & PEIXOTO, E. S. — Investigações laboratoriais sôbre a enterite infantil por *E. coli* G.E.I. Rev. Inst. Adolfo Lutz **18**:45-82, 1958.

Recebido para publicação em 17 outubro 1961.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(6):271-282, novembro-dezembro 1961

CDU 616.594.1-002.828
582.282.122

"TINEA CAPITIS" *(TRICHOPHYTON VIOLACEUM)* EM ASILO DE MENORES

Tratamento pela Griseofulvina

Raymundo Martins Castro [1] e Argemiro Rodrigues de Souza [2]

RESUMO

O presente trabalho relata epidemia de "tinea capitis" (*Trichophyton violaceum*) e tratamento coletivo pela griseofulvina.

Dos 119 menores existentes em um asilo, 103 (86,5%) apresentavam-se doentes. A avaliação foi clínica nos casos típicos, complementada pelo estudo micológico, quando necessário. Para saber se prevaleciam um ou mais dermatófitos, foram estudados micològicamente 20 doentes. Em todos os casos foi isolado o *Trichophyton violaceum*.

A griseofulvina foi usada na dosagem básica de 20 mg/kg de pêso por 92 dias, prazo propositadamente longo por pretender-se também erradicação, sendo administrada a 12 menores pré-púberes, profilàticamente. O resultado foi verificado por cinco exames de tôda a coletividade, o primeiro, 71 dias após o início do tratamento, os demais, após o término, até quatro meses e meio.

Puderam ser controlados 96 dos 103 que receberam tratamento curativo; seis dos 12 que receberam profilaxia medicamentosa e 4 púberes deixados sem tratamento. Todos estavam sadios. Nos exames de contrôle foram encontrados casos de "tinha" representados por menores que haviam estado na instituição, aí contraíram a moléstia, saíram e posteriormente foram readmitidos.

INTRODUÇÃO

Desde há séculos, as tinhas constituem sério problema médico-sanitário das coletividades infantis. Modernamente, com a valorização cada vez maior da Medicina Preventiva, as medidas profiláticas em uso nos países mais adiantados, isto é, rigoroso, sistemático e completo exame médico à admissão de crianças às coletividades infantis, têm atuado como medida eficiente, na prevenção de surtos de "tinea capitis". Mesmo assim, vez ou outra, ocorrem surtos epidêmicos, causados por dermatófitos antropo e zoofílicos [3, 10, 13, 19 e 22]. Quanto às últimas, a prevenção é extremamente difícil, pràticamente impossível por poderem os referidos fungos viverem saprofìticamente nos animais domésticos, fontes da infecção [1].

Em nosso país, onde o exame médico que antecede a admissão de menores às escolas, asilos, parques infantis, etc., é muitas vêzes precário, senão inexistente, com certa freqüência portadores de moléstias infecto-contagiosas, as mais variadas entre as quais as tinhas, são levados como fonte de infecção ao convívio dos sadios.

Furtado [7], no Rio de Janeiro, a propósito de epidemia de tinha ocorrida no Instituto

Fac. Medicina da Univ. São Paulo — Clínica Dermatológica e Sifiligráfica (Prof. S. A. P. Sampaio) e Instituto de Medicina Tropical — Dep. de Microbiologia e Imunologia (Prof. C. S. Lacaz).
(1) Assistente do Inst. Med. Trop. São Paulo e Médico auxiliar Clín. Dermatológica.
(2) Médico auxiliar da Clínica Dermatológica.

Natalina Janot, fêz minuciosa revisão da bibliografia nacional, citando os diferentes autores que verificaram ou estudaram surtos epidêmicos, em coletividades infantis, causados por diferentes dermatófitos. Após êsse trabalho, pouca coisa de monta tem surgido sôbre o assunto, na literatura nacional. Dal Molin & Castro [5] chamam a atenção para a importância do problema no Abrigo de Menores em São Paulo. Os autores, em colaboração com Sampaio [18], observaram, em 1960, duas epidemias em asilos de menores do Estado de São Paulo; uma em São José do Rio Prêto e outra em Santa Isabel. A primeira delas, devido à sua extensão e experimentação terapêutica efetuada, é objeto do presente trabalho. No mesmo ano, Bechelli & col.[2] estudaram epidemia em Batatais, no mesmo Estado e, recentemente (agôsto, 1961) tivemos notícia de outra por *M. canis* em Curitiba [12].

O surto que aqui relatamos, no qual foi feita experiência de tratamento coletivo e erradicação pela griseofulvina, ocorreu no Consórcio Intermunicipal para Assistência aos Menores, em São José do Rio Prêto, Estado de São Paulo, entidade que acolhe crianças abandonadas da região. O asilo localiza-se numa chácara, na zona rural do município, encontrando-se bem instalado materialmente, sendo suas condições higiênicas satisfatórias. Dista da Capital do Estado cêrca de 450 quilômetros. Todos os menores são do sexo masculino, com idade variando de 1½ até 16 anos. Nessa instituição foram admitidos, em 1956, três irmãos oriundos de Palestina (SP), portadores de tinha do couro cabeludo. Conduzidos ao convívio dos demais, a moléstia propagara-se à quase totalidade dos menores, em 1960. Nessa data, a direção do consórcio solicitou auxílio da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, para solucionar o problema. Por designação da Diretoria da mesma fomos incumbidos de, na medida do possível, solucioná-lo.

MATERIAL E MÉTODOS

Exame clínico micológico — O exame clínico-dermatológico foi procedido na totalidade das crianças por ocasião da primeira visita. Os casos típicos foram avaliados clìnicamente; dos atípicos foi colhido material para estudo micológico. O Quadro I resume o que foi encontrado em abril de 1960.

QUADRO I

Relação entre número de menores internados no Asilo e número de parasitados.

Data	Total de internados	Doentes	
		Nº	%
Abril, 1960	103	85	82,5
Outubro, 1960 ..	119	103	86,5

Nos casos clìnicamente suspeitos foi colhido material para estudo micológico e definitiva elucidação. De 20 menores, doentes, retiramos amostras de cabelos e escamas para indagação micológica, verificar qual o fungo e também se estavam em causa um ou mais gêneros e espécies.

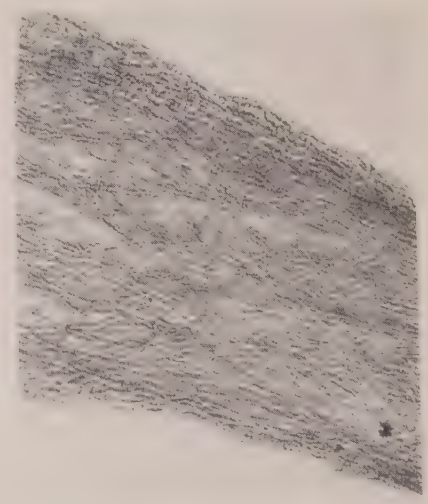

Fig. 1 — O parasito no pêlo: *Trichophyton* de tipo *endotrix*.

A verificação da presença de fungos foi feita por microscopia dos cabelos ou escamas, após clarificação pela potassa a 30%. As semeaduras, predominantes de cabelos, foram feitas em ágar glicosado de Sabouraud.

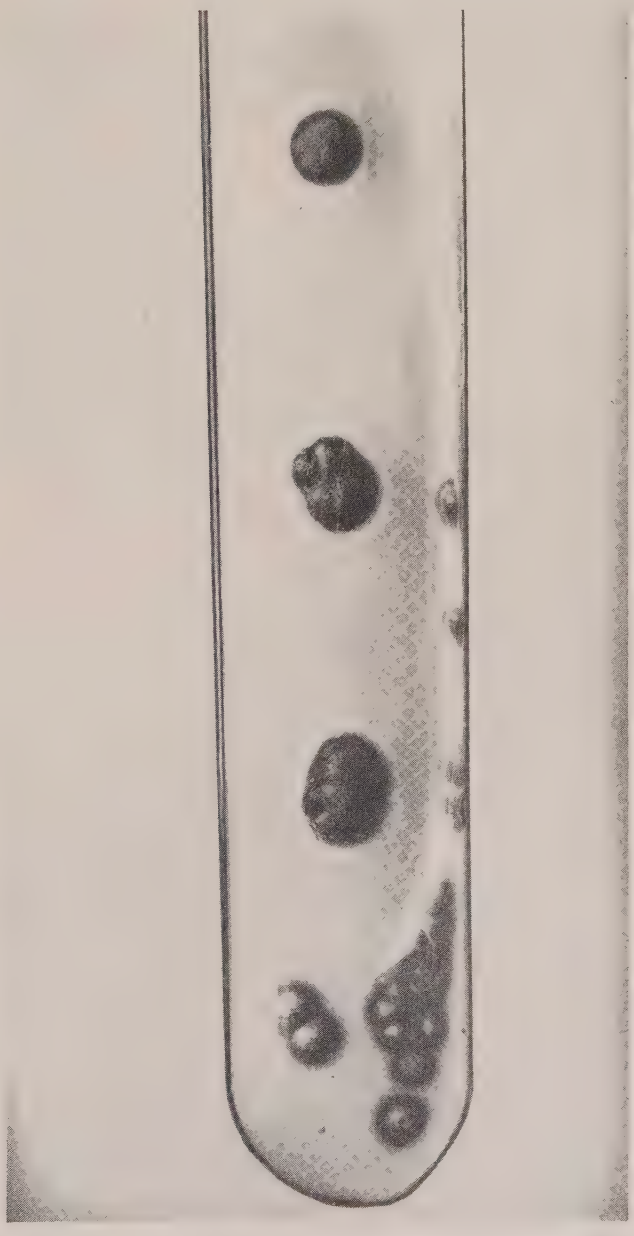

Fig. 2 — Cultura de *Trichophyton violaceum* em agar glicosado de Sabouraud. Cêrca de 60 dias de crescimento.

Tendo-se decidido que a terapêutica seria pela griseofulvina, por ser a única possível na situação, como adiante exporemos, foi feito nôvo exame de tôda a coletividade infantil.

Êsse, em outubro de 1960, fêz-se necessário porque eram passados sete meses do anterior e também para estabelecer a dosagem de cada caso individual. O exame feito nessa ocasião, dentro do mesmo critério, isto é, clínico nos casos típicos e confirmação ou infirmação micológica, quando necessária, revelou o que está no Quadro I.

O acréscimo nos números absolutos e relativos de menores doentes deve-se às admissões e contaminações havidas no período entre o primeiro e segundo exames.

Nessa ocasião, tendo em mente o problema de adultos infectados por *T. violaceum*, com lesões mínimas de couro cabeludo, que permanecem comumente como fonte de infecção despercebida [4, 6, 15], fizemos exame também dos que vivem no asilo. Num portador de afecção descamativa do couro cabeludo (pitiríase simples) foi feito exame micológico, com resultado negativo.

Condições da experimentação terapêutica — O tratamento pela griseofulvina foi decidido por ser o único viável e capaz de erradicar o mal. Êste antibiótico, conquanto de introdução relativamente recente no tratamento das dermatomicoses, tem-se revelado de grande eficiência na cura dessas infecções. Numerosas contribuições de pesquisadores de todo o mundo têm confirmado essa eficácia, como atestam, por exemplo, várias das comunicações ao Simpósio de Miami, em 1959 [20]. O uso da griseofulvina em tratamentos coletivos tem tido também resultados favoráveis [11, 13, 14, 21, 23]. Outras formas de tratamento, sabidamente eficazes, como a radioterapia ou a epilação química pelo acetato de tálio, eram totalmente inexequíveis; a primeira, por não existir aparelhagem necessária na cidade e a segunda, por não dispormos da droga no Brasil e também por ser imprudente lançar mão dêsse recurso, em local tão distante, sem supervisão médica direta e vigilância constante.

Algumas condições, extremamente desfavoráveis na experimentação terapêutica, a qual era também tentativa de erradicação, devem ser referidas, tais sejam:

1.° — A distância de 450 quilômetros que impedia assistência e supervisão constantes, como seria de desejar;

2.° — absoluta impossibilidade de isolar doentes de sadios;

3.° — incompreensão das autoridades encarregadas da admissão de menores, pois, apesar das repetidas advertências. foram admitidas ou readmitidas várias crianças sadias e doentes, perturbando sobremaneira o desenvolvimento da terapêutica.

Dada a impossibilidade de separar doentes de sadios e levando-se em consideração, também, a grande percentagem de doentes comparada com a dos sadios, decidimos administrar tratamento a todos os menores asilados, pré-púberes, conduta essa já adotada por outros em situação semelhante [13]. Dentro dêsse critério, foi administrada a griseofulvina curativamente a 103 crianças e profilàticamente a 12; 4 ficaram sem receber a droga por se tratarem de menores púberes, sadios.

A griseofulvina foi administrada sob a forma de comprimidos *, na dosagem de 20 mg/kg de pêso, aumentando-se até 30 mg/kg de pêso, quando necessário, para não haver fracionamento de comprimidos, durante 90 dias.

* Produto usado: Grifulvin Johnson com 250 mg de substância ativa.

Figs. 3 e 4 — Menores antes do tratamento.

Sendo a experimentação feita em ambiente fechado, foram relativamente fáceis a distribuição e contrôle da ingestão dos comprimidos.

Ao lado da administração da griseofulvina, a única medida terapêutica auxiliar usada foi a raspagem dos cabelos dos menores, medida essa que faz parte da rotina do Consórcio.

O contrôle do tratamento foi feito em cinco ocasiões, a primeira 70 dias após o início e as restantes após o término, até 4½ meses. O que foi observado é apresentado no Quadro II. O critério usado nos contrôles foi o de examinar clìnicamente todos os menores e proceder ao exame micológico (direto e cultura) de todo aquêle que apresentasse lesão suspeita do couro cabeludo ou pele.

QUADRO II

Resultados dos contrôles do tratamento efetuado em menores internados no Asilo.

DATA	Clìnicamente suspeitos	Positivado micològicamente	Observações
15-11-60	...	...	Início do tratamento.
24- 1-61	7	1	
15- 2-61	...	...	Término do tratamento.
18- 3-61	14	1	Menor doente readmitido.
20- 4-61	13	—	
17- 6-61	3	—	
8- 7-61	12	2	Dois menores doentes readmitidos.

RESULTADOS

O estudo micológico de cabelos parasitados mostrou tratar-se de parasitismo por cogumelo do gênero *Trichophyton* de tipo *endotrix* (Fig. 1).

Nos materiais cultivados houve crescimento de amostras típicas de *Trichophyton violaceum* como ilustra a Fig. 2. Não verificamos aparecimento de outra espécie parasitária, nem mesmo do *Trichophyton glabrum*, considerada por SABOURAUD [17] como satélite do *T. violaceum* e atualmente tida como variante apigmentar da mesma.

No primeiro contrôle pudemos comprovar um caso com cultura positiva, apesar de decorridos 71 dias de tratamento; o mesmo negativou em contrôles ulteriores.

No segundo (31 dias após o término) foram encontrados sadios todos os menores do asilo, exceto um, o qual estivera ausente da instituição por ocasião do tratamento e ulteriormente fôra readmitido. Prescrito tratamento para o mesmo e, como se tratava de caso único, foi estabelecido também o isolamento do menor. O mesmo, inconformado com essa medida, fugiu nos dias subseqüentes...

Figs. 5 e 6 — Menores após o tratamento. Notar seqüela cicatricial em alguns.

Já nessa época grassava entre os menores verdadeira epidemia de piodermite, com lesões da pele glabra e do couro cabeludo. Confundida com a tinha pela administração do Consórcio, fomos solicitados a reexaminar as crianças, encontrando contudo sòmente piodermite; nenhum caso de tinha foi comprovado (20-4-61). Nôvo contrôle feito em 17-6-61 também resultou negativo para tinha.

No último exame coletivo efetuado (8-7-61) foram examinados 122 menores, 96 dos quais haviam sido classificados anteriormente como doentes em outubro de 1960 e que se encontravam curados; os oito restantes não mais se encontravam na instituição e não puderam ser controlados; dos 12 para os quais fôra prescrito tratamento profilático puderam ser reexaminados 6, estando também todos sadios. Foi verificada a presença de dois casos de tinha (positivados micològicamente). Ambos eram menores que haviam estado no asilo quando a tinha ali grassava, contraíram a moléstia, saíram e posteriormente foram reinternados. Para um foi conseguido local isolado da instituição onde ficou sob tratamento e o outro permaneceu sob tratamento, semi-isolado na própria instituição.

Os quatro menores púberes, deixados sem tratamento, foram encontrados sadios.

Dentre os outros menores ali existentes, quatro haviam sido admitidos após o tratamento coletivo, sendo todos sadios. Desde julho de 1961 os menores têm permanecido sob contrôle semanal do médico do Pôsto de Puericultura de São José do Rio Prêto (Dr. Júlio Nunes Leal), o qual tem enviado material de todo menor suspeito, medida essa não tomada anteriormente por não haver pediatra no referido Pôsto. Até a presente data (setembro de 1961) foram examinados quatro materiais, todos com resultados negativos. A iconografia que segue ilustra os resultados terapêuticos obtidos (Figs. 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14).

COMENTÁRIOS

O presente estudo, feito com o propósito primordial de tentar erradicar a tinha em tratamento coletivo numa comunidade fechada, com elevada prevalência de infecção sabidamente crônica e rebelde às terapêuticas clássicas, veio, paralelamente, chamar a atenção para as mesmas como problema de saúde pública em agrupamentos infantis. Rossetti [16], em trabalho clássico na literatura dérmato-micológica nacional, chamou a atenção para as tinhas como problema sanitário, propondo medidas profiláticas, as quais, ditadas há 20 anos, continuam oportunas e atuais.

Sòmente o contrôle sistemático e rigoroso, por parte de médico experimentado e conhecedor do problema, pode evitar ocorrências tristes como a que aqui expomos e como a que verificamos em Santa Isabel, em colaboração com Sampaio [18] e também a observada por Bechelli & col.[2], isso para referir sòmente as mais recentes.

Passando a discutir o escôpo precípuo dêste trabalho, que foi a experimentação terapêutica, desejamos comentar alguns aspectos da mesma. O resultado foi altamente satisfatório. Podemos dizer que o índice de curas obtido foi de 100%, pois todos os menores que receberam o tratamento integral e que foram controlados até quatro meses e meio após o término do mesmo, apresentavam-se curados. Salientamos também que em nenhum houve recidiva. Os casos positivados após o término do tratamento foram todos, sem exceção, de crianças anteriormente contaminadas e que não se encontravam na instituição por ocasião do mesmo, sendo readmitidos posteriormente.

A moléstia tendo grassado em caráter endemo-epidêmico entre a infância abandonada

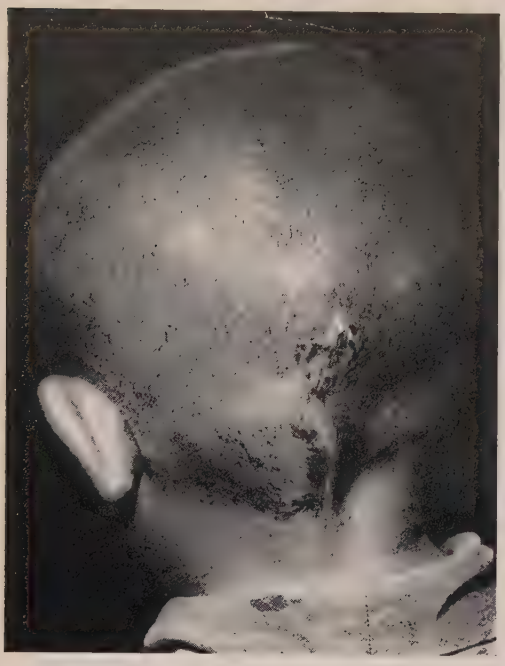

Fig. 7

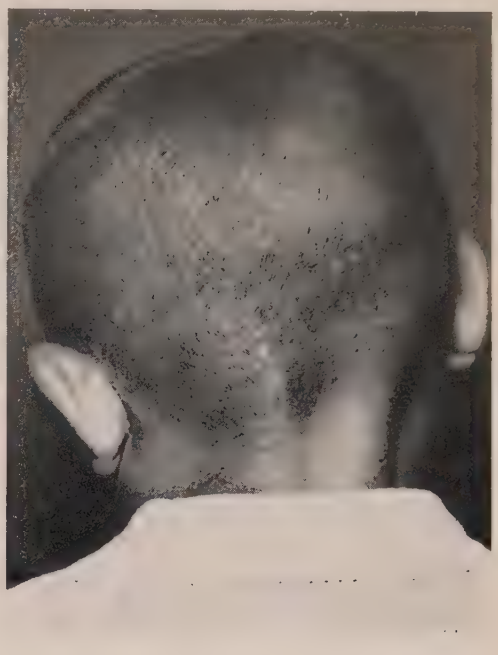

Fig. 8

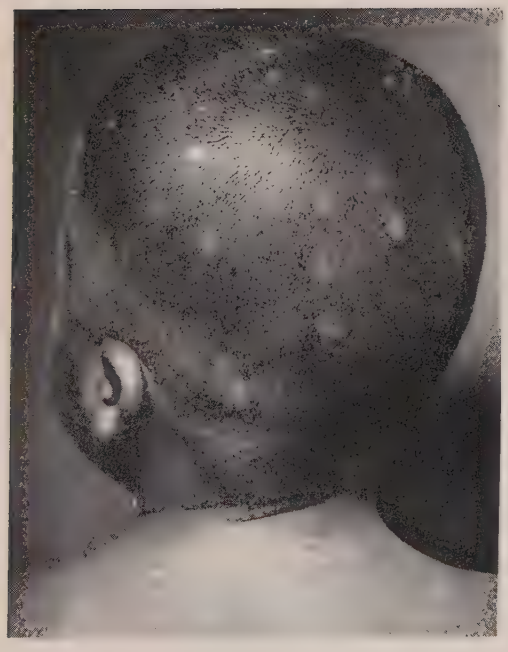

Fig. 9

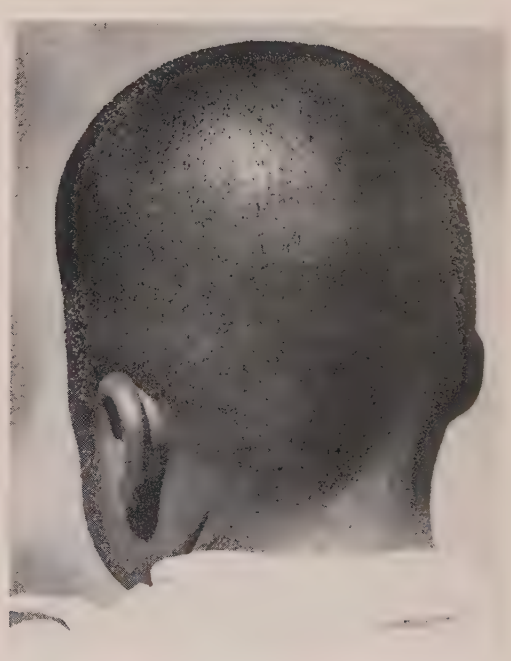

Fig. 10

Casos de "tinea capitis" antes e depois do tratamento.

ou semi-abandonada da zona da Alta Araraquarense por cêrca de quatro anos, faz supor que numerosos menores da região sejam portadores de tinha. Como, apesar de reiterados apelos à direção do Consórcio para que só admitam menores prèviamente examinados no Pôsto de Puericultura de São José do Rio Prêto, verificamos e temos informações de que continuam sendo introduzidos na comunidade, onde a micose havia sido erradicada, menores infectados, somos bastante céticos de que essa mesma comunidade persista sadia.

A duração do tratamento foi propositadamente longa pelos seguintes motivos:

1.º — Tentativa não só de tratamento mas de erradicação da moléstia numa comunidade fechada.

2.º — Experimentação terapêutica conduzida em local distante, sem supervisão permanente. Êsse fato desaconselhou a experimentação de diferentes esquemas terapêuticos, o que teria sido interessante para determinar a dosagem mínima eficaz, aspecto de grande interêsse na terapêutica pela griseofulvina, devido ao seu elevado custo [8, 9].

Na vigência do tratamento não se verificaram efeitos colaterais que obrigassem a interrupção do mesmo em nenhum caso. A ocorrência de extenso surto de piodermite, em pele glabra e couro cabeludo, observado no final do tratamento, não lhe pode ser atribuída. Ao finalizarmos, não pretendemos ter resolvido definitivamente o problema do "Consórcio Intermunicipal de Assistência aos Menores da Alta Araraquarense", mas de ter demonstrado que, pelo tratamento coletivo pela griseofulvina, é possível fazê-lo.

As medidas complementares que faltam para solução definitiva não são de ordem médica, mas de ordem social e administrativa, escapando de nossa alçada.

SUMMARY

"Tinea capitis" ("Trichophyton violaceum") in a home for children: treatment with griseofulvin.

The authors report on an epidemics of "tinea capitis" (*Trichophyton violaceum*) in a children asylum of São Paulo State. Treatment was done with griseofulvin in all the patients.

Before the beginning of the treatment, clinical and, when necessary, the mycological examination had showed that 103 of the 119 children (86.5%) were contamined. In order to know if we were dealing with one or more dermatophytes 20 patients were studied from the mycological point of view. All of them were infected with *T. violaceum*. Twenty mg/kg body weight of griseofulvin were used in all the patients. Twelve children in a prepuberal stage also received the drug in order to prevent the infection. Results were controlled through five examinations of all the children in the Asylum. The first one was done 71 days after the beginning of the treatment and the remainder after finishing the treatment up to four months and a half.

Follow-up of 96 of the 103 children receiving curative treatment as well as six of the twelve receiving the drug in order to prevent the disease showed that all of them were cured.

During control examination cases of "tinea capitis" were found in patients who had been before in the Asylum, there becoming infected, and, after leaving it were again readmitted.

AGRADECIMENTO

Os autores são gratos à Johnson & Johnson do Brasil, Divisão Farmacêutica, que forneceu a maior parte da griseofulvina usada na experimentação e recursos financeiros ne-

Fig. 11

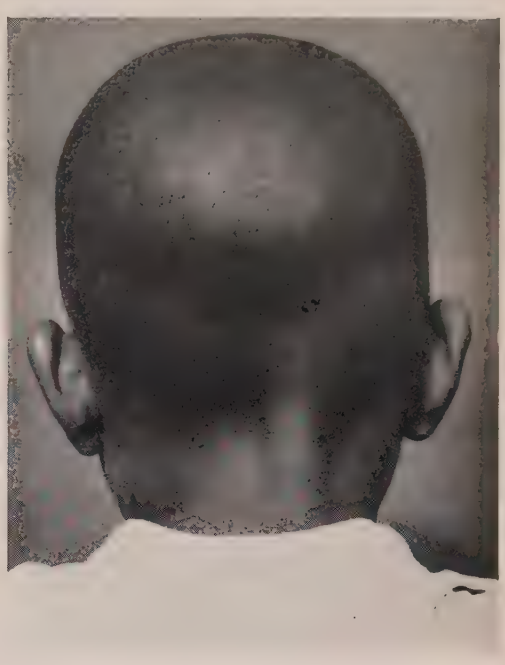

Fig. 12

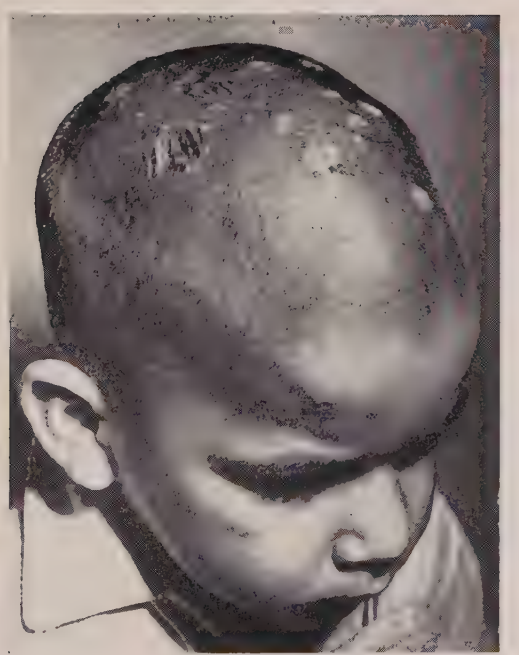

Fig. 13

Fig. 14

Casos de "tinea capitis" antes e depois do tratamento.

cessários à execução e publicação do presente trabalho; ao Serviço Social de Menores que garantiu os meios necessários para aquisição do restante da medicação; aos colegas Drs. Athaly B. C. Martins Castro, Duilio Pellegrini, Julio Nunes Leal e Nelson de Carvalho Seixas pela valiosa colaboração prestada; ao Sr. José Antônio Porfírio pelo esmero na documentação fotográfica.

REFERÊNCIAS

1. ALMEIDA, F. de; SILVA, A. C.; BRANDÃO, C. H.; MONTEIRO, E. L. V. & MOURA, R. A. — Saprofitismo do *Microsporum canis* em gatos. Rev. Inst. Adolfo Lutz **10**:49-52, 1950.

2. BECHELLI, L. M.; PIMENTA, W. P.; SANCHES, A.; MENEZES, E. F.; UTHIDA, A. M.; VILLELA, G. R.; MAIA, N. S. & LEME, M. V. S. — Alguns aspectos epidemiológicos e clínicos da tinha do couro cabeludo em Ribeirão Prêto e Batatais, em coletividades abertas e fechadas. Trabalho apresentado à XVII Reunião Anual dos Dermatologistas Brasileiros, Curitiba, 1960.

3. BORNHAUSER, S. — Über eine Mikrosporie-Epidemie in einem Kinderheim. Dermatologica **98**:222-226, 1949.

4. CASTRO, A. M.; CASTRO, R. M.; ALMEIDA NETO, E. & PROENÇA, N. — "Tinea capitis" em adultos. Rev. Hosp. Clín. **15**: 331-334, 1960.

5. DAL'MOLIN, R. & CASTRO, M. — O problema das tinhas no abrigo de menores. Bol. Serv. soc. Menores **7**:9-21, 1947.

6. FONSECA, F. da; OSSWALD, W. & MACEDO, C. de — Importância e epidemiologia da tinha tonsurante após a puberdade. Trabalhos da Sociedade Portuguêsa de Dermatologia e Venereologia **18**:85-93, 1960.

7. FURTADO, A. R. — A propósito de uma epidemia de tinha no Rio de Janeiro causada pelo *Trichophyton mentagrophytes* (Ch. Robin, 1853) Blanchard, 1896. Mem. Inst. Oswaldo Cruz **45**:407-440, 1947.

8. GONZALEZ-OCHOA, A. & AHUMADA PADILLA, M. — New schemes in the treatment of dermatophytoses with griseofulvin. A.M.A. Arch. Dermatol. **81**:833-837, 1960.

9. KAMINSKY, A. & KAMINSKY, C. A. — Experiencias clínico-terapeuticas con griseofulvina en uso local. Dia Médico, Buenos Aires **33**:1288-1306, 1961.

10. KIESSLING, W.; SCHÜNFELD, J. & BENDER, E. — Über eines von Katzen übertragene Mikrosporieepidemie in Kaiserslautern. Arch. f. klin. & exper. Dermatol. **207**:71-85, 1958.

11. LEVY-LEBHAR, J. P. & HERMAN, M. — Traitment des teignes dans les collectivités rurales par la griseofulvine. Maroc méd. **40**:700-703, 1961.

12. LIMA NETO, A. X.; CHIMIGAZZO Jr., H.; NACARATTO, A. F. D. & LIMA, S. S. — Informação pessoal, 1961.

13. MACKENZIE, D. W. R.; BURROWS, D. & A. L. — *Trichophyton sulphureum* in a residential school. Brit. M. J. **2**:1055-1058, 1960.

14. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ — Chronique. Griseofulvine et teigne **15**:68-70, 1961.

15. RAUBITSCHEK, F. — Infectivity and familiarity of black-dot *Tinea capitis*. A.M.A. Arch. Dermatol. **79**:477-479, 1959.

16. ROSSETTI, N. — Um novo problema sanitário em São Paulo. Primeiros resultados de um inquérito sôbre as tinhas. Rev. Inst. Adolfo Lutz **1**:217-303, 1941.

17. SABOURAUD, R. — Les teignes. Paris, Masson, 1910.

18. SOUZA, A. R.; CASTRO, R. M. & SAMPAIO, S. A. P. — Sôbre duas epidemias de tinha no Estado de São Paulo. Trabalho apresentado à XVII Reunião Anual dos Dermatologistas Brasileiros, Curitiba, 1960.

19. STRAUSS, J. A. — An epidemic of human ringworm due to *Trichophyton verrucosum*. New England J. Med. **261**:331-336, 1959.

20. SYMPOSIUM ON GRISEOFULVIN — A.M.A. Arch. Dermatol. **81**:649-882, 1960.

21. VINCENT, J.; NEEL, R. & DROUHET, E. — Traitement collectif des teignes par la griseofulvine en milieu scolaire fortement contaminé. Bull. Soc. Pathol. éxot. **53**:869-877, 1960.

22. WALBY, A. L. — *Tinea capitis* (M. Audouini) in a residential school. Brit. med. J. **1**:1114-1115, 1952.

23. ZIPROWSKI, L.; KRAKOWSKI, A.; SCHEWACH-MILLET, M. & BTESH, S. — Griseofulvin in the mass treatment of *Tinea capitis*. Bull. World Health Org. **23**:803-810, 1960.

Recebido para publicação em 27 setembro 1961.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(6):283-286, novembro-dezembro 1961

CDU 616.594.1-002.828
:578.4.084.23

MICROMORFOLOGIA DA *CANDIDA ALBICANS* EM PARASITISMO NA PELE E UNHA

A. T. Londero [1], O. Fischman [2] e C. D. Ramos [2]

RESUMO

Os autores comentam os aspectos micromorfológicos da *Candida albicans* observados em parasitismo, em especial os trabalhos de Taschdjian e Gresham & Whittle.

Estudaram micològicamente 23 casos de candidiose: exame direto com coloração pelo Giemsa e identificação específica da *Candida*.

Em todos os casos o agente foi a *C. albicans*. Verificaram que, em parasitismo, êste fungo apresenta aspecto micromorfológico típico. Êle se apresenta com filamentos micelianos e blastopórios, isolados ou em cachos, nos pontos de septação; os filamentos são tanto mais longos e mais numerosos quanto mais inflamatória fôr a lesão; o inverso é verdadeiro.

Asseguram que o exame laboratorial direto permite garantir o parasitismo pela *Candida;* à cultura cabe, ùnicamente, o papel de isolamento e identificação específica.

INTRODUÇÃO

O aspecto da *Candida albicans* em parasitismo, ao exame direto em escamas da pele ou da unha, tem sido descrito de maneira variável. Para uns, ao lado de elementos gemulantes, verifica-se pseudomicélio [4, 12, 13]; para outros, fragmentos de hifas e blastospórios [5, 14], aquêles ocasionalmente [5]; enfim, gêmulas em cacho, na altura dos septos, ao longo dos filamentos micelianos [3], numerosos, formando trama, ou escassos [7].

Nos cortes, Baker [2] descreve a presença de filamentos micelianos ao lado de elementos gemulantes, preponderando ora um, ora outro. Nos casos de granuloma por *Candida albicans*, Mata & Jimenez [10] e Nityananda [11], entre outros, verificaram a presença de hifas retas ou sinuosas, pouco refráteis, com blastospórios presos a elas.

Taschdjian [15], constatou que na candidiose clínica da mucosa bucal há invasão das células pelo cogumelo, que se desenvolve sob a forma de hifas; e sòmente quando a *Candida* está em parasitismo se evidenciam hifas intracelulares; em saprofitismo, o cogumelo se apresenta em forma de lêvedo e extracelular.

Gresham & Whittle [6] verificaram que a *Candida albicans*, nas lesões inflamatórias da pele, se apresenta, predominantemente, sob a forma de elementos micelianos. a abundância dêstes correndo paralela à intensidade da inflamação. Concluíram que o aparecimento de hifas verdadeiras tem interêsse prático, porque nessa forma o fungo, tendo continuidade funcional, pode parasitar os tecidos, indo a locais distantes do ponto de penetração.

Trabalho da Cadeira de Zoologia e Parasitologia da Faculdade de Farmácia de Sta. Maria (U.S.M.). Rio Grande do Sul.

(1) Professor catedrático.

(2) Técnicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 23 pacientes com manifestações da pele (21) e unha (2) sugestivas de candidiose.

O material era colhido por raspagem com bisturi, montado em lâmina e corado pelo processo de VANBREUSEGHEM [9], pois ARTAGAVEYTIA-ALLENDE & ZORRON [1] julgam útil a coloração pelo Giemsa para a visualização da *Candida*.

Em cada lâmina se examinava mais de 10 fragmentos de escamas da pele ou de unha. O exame era repetido, em caso de negatividade, até uma dezena de vêzes. Positivado o exame direto, o cogumelo era isolado e identificado seguindo LODDER & VAN-RIJ [5].

RESULTADOS

Doze pacientes apresentavam intertrigo das pregas interdigitais; 6, intertrigo ingüinal ou axilar; 2, intertrigo de ambas as regiões; 2, oniquia com paroniquia; 1, lesões generalizadas da pele e mucosas.

Em todos os casos foi identificado, como agente causador, a *Candida albicans*.

Em escamas da pele foi relativamente fácil evidenciar, ao exame direto, filamentos micelianos do parasito (um a dois exames); em fragmentos de unhas, tal verificação foi mais difícil (10 exames em um dos casos).

Na maioria (20 pacientes) em apenas algumas escamas da pele se evidenciavam elementos invasores micelianos do cogumelo,

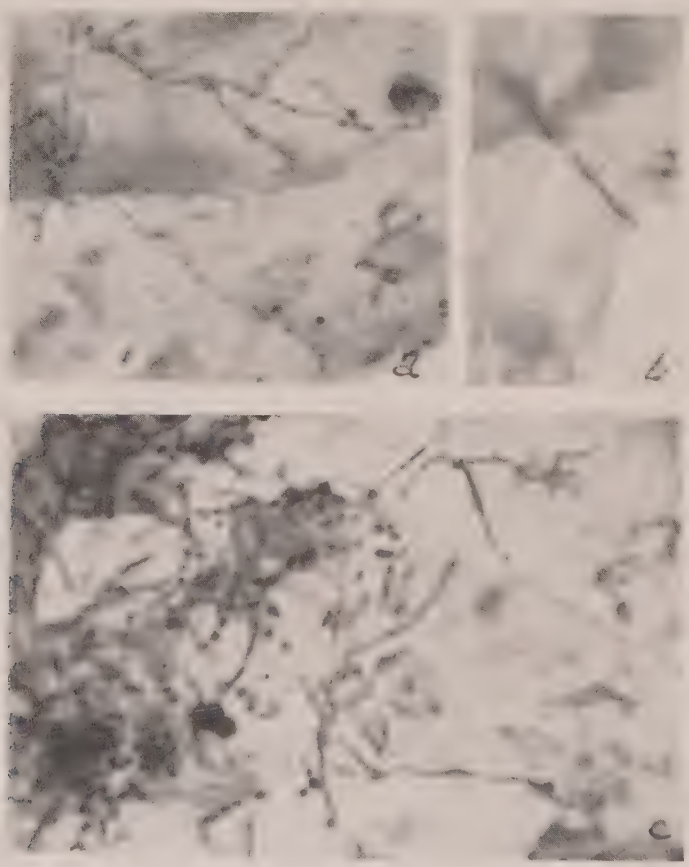

Fig. 1 — Aspectos micromorfológicos da *C. albicans* em parasitismo. Em a) em escama da pele de lesão intertriginosa; em b) em fragmento de unha; em c) em lesão intensamente inflamatória (intertrigo inguino-crural). ×450 (em *b* a fotografia foi ampliada duas vêzes).

muito típicos porque traziam apensos nos pontos de septação, espórios piriformes, de longe em longe, ao lado de outros isolados (Fig. 1a). Em um dos casos, lesão intensamente inflamatória, foi verificada uma trama miceliana de hifas verdadeiras, apresentando cachos de elementos em lêvedo, grupados nos pontos de septação (Fig. 1c). Em um dos dois pacientes com oniquia, foi constatado apenas um curto fragmento de hifa, mesmo assim não confundível com o de dermatófitos (Fig. 1b); no outro, havia maior riqueza em hifas.

DISCUSSÃO

São bastante freqüentes os trabalhos — nacionais e estrangeiros — que estudaram o isolamento de material humano, normal e patológico, de leveduras. Nêles, a *Candida albicans* aparece, o mais freqüentemente, em alta percentagem.

O critério de patogenicidade da *Candida albicans*, em especial vegetando na pele, varia com os autores, porque não se admitia um aspecto micromorfológico que tipificasse o parasitismo dêsse cogumelo. Não se distinguia o vegetar saprofítico, comum, com o crescer em parasitismo. Isto trazia a desvalorização da maioria dos trabalhos, a dúvida e o descrédito a muitos dêles, baseados ùnicamente no isolamento do cogumelo em cultura.

Coube a TASCHDJIAN [15] chamar a atenção para a micromorfologia que permite garantir quando se trata de parasitismo ou de saprofitismo das mucosas pela *Candida albicans*, mesmo em ausência de manifestações clínicas visíveis.

GRESHAM & WHITTLE [6] estenderam êsse conceito à candidiose da pele.

Buscamos a verificação. Pudemos constatar sempre os filamentos micelianos (hifas verdadeiras) quando a *Candida albicans* está em parasitismo na pele ou na unha.

Êste aspecto sela o parasitismo do cogumelo. Certo, tanto mais inflamatória a lesão, tanto mais elementos micelianos são vistos na preparação, chegando a formar uma trama de fácil visualização; nas lesões pouco inflamatórias, menor é o número de hifas, são mais reduzidas em tamanho, mas ainda características.

Os elementos micelianos da *Candida albicans* apresentam-se de paredes não paralelas, trajeto sinuoso, com septos de difícil evidenciação e afastados entre si. São distinguíveis dos dermatófitos em parasitismo, porque êstes são septados regularmente e mais parecem um rosário de artrospórios em linha; ou da *Malassezia furfur*, porque esta se apresenta como hifas de paredes espêssas, com septação nítida, ao lado de espórios redondos de paredes espêssas.

O exame direto do material colhido da pele ou da unha permite um diagnóstico simples e relativamente fácil da candidiose; à cultura cabe, pura e simplesmente, o papel de isolar o cogumelo para posterior identificação específica.

SUMMARY

Micromorphology of "Candida albicans" as skin and nail parasite.

The Authors comment on the micromorphological aspects of *Candida albicans* in parasitism, specially TASCHDJIAN's and GRESHAM & WHITTLE's works.

They studied 23 clinical cases of Candidiasis. Direct examination was made by Giemsa staining and specific identification according to LODDER & VAN-RIJ.

C. albicans was the agent. They verified that the fungus has a typical micromorphologic aspect. It presents a fine mycelium with budding cells or clusters of blastospores in the septum places; the hyphae are as greater and more numerous as more inflammatory is the lesion, and the contrary is also true.

They affirm that the direct examination may secure the parasitism by *Candida* and the cultural one is necessary only for the isolation and specific identification.

REFERÊNCIAS

1. ARTAGAVEYTIA-ALLENDE, R. C. & ZORRON, R. G. — Importancia del hallazgo de leveduras en materiales humanos. Ciencia, México **17**:140-143, 1958.

2. BAKER, R. D. — The diagnosis of fungus diseases by biopsy. J. chron. Dis. **5**:552-570, 1955.

3. BENHAM, R. W. — Species of *Candida* most frequently isolated from man: methods and criteria for their identification. J. chron. Dis. **5**:460-471, 1955.

4. CABANIS, W. H.; MANLEY, W. F. & SWAN, R. E. — Cutaneous moniliasis in a premature infant. J. Pediatr. **50**:480-483, 1957.

5. CONANT, N. F.; SMITH, D. T.; BAKER, R. D.; CALLAWAY, J. L. & MARTIN, D. S. — Manual of clinical mycology. 2nd. ed. Philadelphia, Saunders, 1954.

6. GRESHAM, G. A. & WHITTLE, C. H. — Studies on the invasive, mycelial form of *Candida albicans*. Sabouraudia **1**:30-33, 1961.

7. LEWIS, G. M.; HOPPER, M. E.; WILSON, J. W. & PLUNKETT, O. R. — An introduction to medical mycology. 4th. ed. Chicago, Year book publ. 1958.

8. LODDER, J. & van RIJ, N. J. — The yeasts: a taxonomic study. Amsterdam, North Holland Publ. Co. 1952.

9. LONDERO, A. T. — Méthode de R. Vanbreuseghem pour la coloration de l'agent du *Pytiriasis versicolor*: modification de la méthode, son usage dans les teignes de la peau glabre. Arch. belges Dermatol. **13**:42-45, 1957.

10. MATA, L. & JIMENEZ, J. M. — Reporte de un caso de granuloma hiperqueratosico producido por *Candida albicans*. Rev. Biol. trop. **6**:1-16, 1959.

11. NITYANANDA, K. — Monilial granuloma. Brit. med. J. **1**:690-691, 1959.

12. OCHOA, A. G. — Monilia y moniliasis: valoración de los diversos recursos para el diagnostico de las moniliasis. Rev. Inst. Salubr. & Enf. trop. **17**:13-21, 1957.

13. PARK, D. R.; DESMOND, M. M. & FAHLBERG, W. S. — *Monilia onichia*: report of a case in a 51-days-old premature infant. J. Pediatr. **44**:313-316, 1954.

14. SHOME, S. K. — Studies in medical mycology. II. Candidiasis of scalp. Mycopathol. & Mycol. appl. **10**:187-190, 1959.

15. TASCHDJIAN, C. L. — Laboratory and clinical studies on candidiasis on the newborn infant. J. Pediat. **50**:426-433, 1957.

Recebido para publicação em 7 outubro 1961.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(6):287-289, novembro-dezembro 1961

CDU 616.937.3-08

FORMA AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS TRATADA PELA NITROFURAZONA

Humberto de Oliveira Ferreira (1)

RESUMO

Apresentando a nitrofurazona, como demonstrou Packchanian, nítida ação supressiva, destruindo as formas circulantes do *T. cruzi*, o autor empregou esta droga numa criança com forma aguda da doença de Chagas, em esquema de duração prolongada, baseado num trabalho experimental realizado por Zigman Brener no camundongo.

Aparentemente os resultados obtidos nesse caso foram muito bons.

INTRODUÇÃO

Nossa experiência [2] a respeito da doença de Chagas na fase aguda se baseia em 61 casos, observados entre 1948 e 1961, todos comprovados pela presença do *Trypanosoma cruzi* no sangue periférico, tendo a idade dos pacientes oscilado entre 8 meses e 14 anos. Até há bem pouco tempo os agentes quimioterápicos usados no tratamento da doença, na fase aguda, mostraram-se desprovidos de valor.

Baseados num trabalho de Brener [1], que evidenciou a atividade terapêutica da 5-nitro-2-furaldeído-semicarbazona (nitrofurazona) em esquemas de duração prolongada na infecção experimental do camundongo pelo *Trypanosoma cruzi*, resolvemos empregar essa substância em um caso agudo humano de doença de Chagas. O emprêgo dêste medicamento se fundamenta na atividade da nitrofurazona no sentido de destruir um grande número ou a totalidade das formas circulantes do *T. cruzi;* realmente, certos aspectos do ciclo evolutivo fazem supor que tôdas ou pelo menos a grande maioria das formas flageladas, libertadas dos tecidos, circulam por algum tempo no sangue antes de penetrarem em novas células.

Como demonstrou Packchanian [3], a nitrofurazona apresentada nítida ação supressiva, destruindo as formas circulantes; aplicada em dose única, a droga ainda está presente no sangue do camundongo após 24 horas; não se acumula ao nível dos tecidos, pois é ràpidamente decomposta por todos êles, com exceção do sangue; possui baixa toxicidade.

TRATAMENTO

A nitrofurazona apresenta-se sob a forma de um pó amarelado pouco solúvel na água.

Administramos o medicamento na dose de 30 mg por kg de pêso durante 25 dias e na dose de 25 mg por kg de pêso por mais 25 dias, tendo assim o tratamento a duração total de 50 dias.

Contrôle da atividade terapêutica — Em nosso caso, 12 horas após a administração da droga, a temperatura da criança normalizou-se; 36 horas depois do uso da mesma só foi encontrado um tripanosoma após diversos exames de sangue realizados; 96 horas após o emprêgo da nitrofurazona, a pesquisa resultou negativa.

O sinal de Romaña teve regressão muito rápida, não estando mais presente 5 dias após o início do uso da droga (Fig. 2).

(1) Catedrático interino de Clínica Pediátrica e Puericultura na Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro.

No fim de 50 dias de administração suspendemos o medicamento e fizemos o xenodiagnóstico, utilizando 10 "barbeiros" que foram sacrificados 45 dias após e examinados pelo Prof. Pedreira de Freitas e Dr. Rubem Jácomo, com resultado negativo.

Fig. 1 — Sinal de Romaña presente no dia do diagnóstico (13-VI-61). De regressão lenta, a duração do sinal de Romaña em 60 casos foi de 30 dias.

Fig. 2 — Desaparecimento do sinal de Romaña 5 dias após o início do tratamento pela nitrofurazona (18-VI-61).

A nitrofurazona foi dada por via oral, sendo a dose total em 24 horas fracionada, de modo que a criança recebeu o medicamento de 8-8 horas; foram feitas provas de função hepática, exame de urina e hemograma, que evidenciaram excelente tolerância pelo mesmo.

A reação de Guerreiro-Machado, realizada pelo Prof. Pedreira de Freitas pelo método quantitativo 2 meses após o início do tratamento, revelou-se positiva, sendo nossa intenção repeti-la de quando em quando, a fim de observarmos a evolução do caso sob êste aspecto.

OBSERVAÇÃO CLÍNICA

Anamnese — S.H.S., 6 anos, sexo feminino, côr morena, residente em Conceição das Alagoas, examinada em 13 de junho de 1961. Pais vivos e sadios. Moléstia anterior: sarampo.

História da doença atual — Apresentou febre há 12 dias com exacerbação vespertina; sinal de Romaña presente (Fig. 1).

Exame físico — Pêso: 16,400 kg. Estatura: 109 cm. Temperatura: 38°,5C. Pulso: 114. Pressão arterial: 90/60.

Coração: taquicardia. O eletrocardiograma revelou taquicardia sinusal; condução AV normal (PR = 0,16); QRS = 0,06; QTC = 0,43 (prolongado); R ampla em V_4 e V_5, com deflexão intrinsicóide = 0,04; alterações na recuperação ventricular.

Abdome: nada digno de nota.

Exames de sangue — Pesquisa de *T. cruzi* no sangue periférico: positiva. Hemograma: hematias, 3.850.000; hemoglobina, 77% ou 11 g; leucócitos, 7.000 por mm^3; eosinófilos, 2%; linfócitos, 75%; monócitos, 2%; neutrófilos em bastão, 4%; neutrófilos segmentados, 17%.

Exame de fezes — Presença de ovos de Necator.

EVOLUÇÃO DO CASO APÓS O INÍCIO DO TRATAMENTO

Em 15-VI: na pesquisa do *T. cruzi* no sangue periférico, foi encontrado um só *T. cruzi* após diversos exames. Em 17-VI: pesquisa do *T. cruzi* no sangue periférico, negativa.

Em 22-VII: o eletrocardiograma evidenciou melhora; sístole elétrica menos prolongada.

Em 1-VIII — *Hemograma*: hematias, 4.000.000; hemoglobina, 80%; leucócitos, 7.500 por mm^3; eosinófilos, 4%; linfócitos, 60%; monócitos, 2%; neutrófilos em bastão, 4%; neutrófilos segmentados, 30%. *Exame de urina*: nada de anormal. *Provas de função hepática* (reação de Hanger e turvação do timol): negativas.

Em 10-VIII — Reação de Guerreiro-Machado: ++++.

Em 24-IX — Xenodiagnóstico negativo, utilizando 10 "barbeiros".

No início do tratamento foram também feitas radiografias do coração, vasos da base e esôfago, que se mostraram normais.

SUMMARY

Acute form of Chagas disease treated by nitrofurazone.

Nitrofurazone presents, as demonstrated by PACKCHANIAN, a defined suppressive action, destroying the circulatory forms of *T. cruzi.*

The Author employed this drug on a child with acute symptoms of Chagas disease, over a prolonged period. This experience was based on an experiment carried out by ZIGMAN BRENER, on mice.

Apparently the results obtained in this case were very good.

AGRADECIMENTOS

Desejamos expressar nossos agradecimentos ao Prof. Pedreira de Freitas pelo estímulo que nos deu para realizarmos essa investigação, bem como pelos exames que realizou no caso (xenodiagnóstico e reação de Guerreiro-Machado); ao Dr. Rubem Jácomo pelos demais exames de laboratório praticados; ao Dr. Zigman Brener que nos enviou gentilmente a droga para efetuarmos nossa experimentação; ao Dr. Ezio De Martino pela execução dos electrocardiogramas e ao Dr. Levindo da Fonseca pelas radiografias feitas.

REFERÊNCIAS

1. BRENER, Z. — Atividade terapêutica do 5-nitro-2-furaldeído semicarbazona (nitrofurazona) em esquemas de duração prolongada na infecção experimental do camundongo pelo *Trypanosoma cruzi.* Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 3:43-49, 1961.

2. FERREIRA, H. de O. — Fase aguda da doença de Chagas na infância: aspectos clínicos observados em 57 casos. J. Pediat. 25:393-397, 1960.

3. PACKCHANIAN, A. — Chemotherapy of experimental Chagas disease with nitrofuran compounds. Antib. & Chemoth. 1:13-23, 1957.

Recebido para publicação em 4 novembro 1961.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(6):290-297, novembro-dezembro 1961

CDU 616.981.551-036.88

ESTUDOS SÔBRE A CAUSA DE MORTE NO TÉTANO

IV — Tétano experimental no camundongo branco: quadro clínico, metabolismo, glicogênio hepático e resistência à asfixia

Kurt Kloetzel

RESUMO

Neste trabalho foi estudado primeiramente o quadro clínico determinado por doses variáveis de toxina tetânica, comprovando-se que doses baixas se fazem acompanhar de hipertonia muscular, enquanto que doses muito elevadas produzem paralisia completa do animal, com grande redução tanto no período de incubação como no tempo de sobrevida. A hipertonia muscular não se mostrou incompatível com a sobrevida nos animais injetados com baixas doses de toxina, verificando-se recuperação completa. Nenhum dos animais apresentou espasmo generalizado, corriqueiro no tétano humano de média e grande gravidade, indício certo de que a causa de morte nesta enfermidade deverá ser procurada alhures.

Animais injetados com 1.5 e 4.0 DMM (padronizados para o cobaio) recuperam o seu pêso quando alimentados após período de jejum, mesmo depois que sintomas de tétano já se manifestaram. Da mesma forma, observa-se no grupo injetado com 4.0 DMM que o glicogênio hepático volta a seus níveis iniciais durante a realimentação, o que indica que a "lesão bioquímica" que supomos existir no tétano ou não interfere na síntese do glicogênio ou se manifesta apenas como fenômeno terminal.

O metabolismo do animal injetado com toxina tetânica sofre pronunciada queda nas séries com 40.000 e 100 DMM, a despeito de acelerado consumo de glicogênio hepático. Esta evidência de incompleta metabolização dos carboidratos parece-nos indicativa de um bloqueio enzimático determinado pela toxina tetânica no camundongo branco.

O tempo de sobrevida a baixas tensões parciais de oxigênio é sensìvelmente menor no animal inoculado, mesmo quando êste fôr examinado antes de se manifestarem os sintomas de tétano. A nosso ver isto atesta a existência de um bloqueio no metabolismo anaeróbio dos carboidratos.

Êstes achados não são específicos do tétano, como mostrou a revisão bibliográfica. Estamos ainda impossibilitados de decidir se os fenômenos aludidos constituem a "causa de morte" da doença ou se são apenas fenômenos terminais, subsidiários a uma intoxicação mais extensa.

INTRODUÇÃO

Em trabalhos anteriores [9] focalizamos o quadro clínico e laboratorial do tétano humano. Como fase preparatória para investigações mais pormenorizadas da ação histotóxica da toxina tetânica efetuamos uma série de ensaios preliminares em camundongos brancos, a fim de determinar não só os aspectos clínicos nestes animais de laboratório como colhêr dados sôbre o metabolismo energético nos mesmos. Diante da variabilidade do

Fac. Medicina da Univ. São Paulo — Clínica de Mol. Trop. e Infectuosas (Prof. J. A. Meira).

quadro determinado por diferentes doses de toxina, foi mister a execução de diversas séries de experiências.

Trabalhos de WENSINCK & col.[17, 18, 19] já anteriormente haviam mostrado a existência de uma "lesão bioquímica" no tétano experimental. Cumpria-nos no presente trabalho verificar se também "in vivo" indícios de um distúrbio no metabolismo dos carboidratos podiam ser verificados.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos camundongos brancos de 20-25 g de pêso, em boas condições de saúde. A toxina lhes era injetada debaixo da pele do dorso, em concentrações variáveis. Empregamos a toxina bruta do Instituto Butantã; esta toxina contém 40.000 DMM por ml, sendo titulada para o cobaio.

Os animais submetidos ao jejum eram deixados em gaiola metálica completamente limpa e a êles era fornecida água durante todo o período da experiência.

O metabolismo era medido em aparelho especial, sendo o animal encerrado numa cesta metálica que, sem restringi-lo demais, impedia-lhe contudo a movimentação ampla. O aparelho era enchido com ar. Cada experiência durava 30 minutos, sendo iniciada depois que se verificara o equilíbrio térmico do aparelho. As experiências realizavam-se a 23°,0C, mais ou menos. O aparelho era coberto com um pano, a fim de se evitarem os estímulos visuais.

Para a determinação do glicogênio hepático era o animal sacrificado com uma pancada na nuca, imediatamente aberto e um fragmento de fígado imerso em solução fervente de potassa cáustica. A dosagem obedeceu às normas expostas por HAWK & col.[6].

Determinava-se o tempo de resistência à asfixia encerrando um animal inoculado e um contrôle em um balão de vidro, dentro do qual se fazia entrar uma mistura de nitrogênio com 3-5% de oxigênio. O animal era declarado morto quando cessavam os movimentos de "gasping".

A verificação do tempo de incubação do tétano experimental baseia-se em critérios um tanto subjetivos. Com doses de toxina que determinam hipertonia muscular o primeiro sinal é a dificuldade no andar; mais precisa ainda é u'a manobra de que atualmente lançamos mão e que consiste em pendurar o animal pela cauda e observar se êste consegue curvar o corpo para cima, numa tentativa de libertação. Findo o período de incubação do tétano se pode notar que a flexibilidade do tronco é maior num sentido que noutro. Quando o camundongo fôr injetado com doses maciças de toxina (em nosso caso 10.000 e 40.000 DMM), o primeiro sinal de tétano é a taquipnéia, só mais tarde observando-se sinais mais evidentes de paralisia muscular.

Os sinais clínicos foram observados em 127 animais injetados com doses variáveis de toxina. As nossas observações serão reunidas sob quatro tópicos, dada a semelhança do quadro clínico para doses de toxina da mesma grandeza.

Dados sôbre o metabolismo e o glicogênio hepático normal foram obtidos em 55 animais contrôles. Os mesmos fenômenos e ainda a perda de pêso do animal foram observados em 99 camundongos inoculados. O Quadro I fornece maiores pormenores.

QUADRO I

Padronização das experiências constantes da Fig. 4.

Série	Dose de toxina (DMM para cobaio)	Nº de animais
A	40.000	18
B	100	5
C-1	10	5
C-2	10	5
D-1	4	12
D-2	4	12
D-3	4	12
E-1	1,5	10
E-2	1,5	10
E-3	1,5	10

RESULTADOS

1) *Quadro clínico*

Grupo I — Tempo de incubação maior que 100 horas (0,1-0,5 DMM).

A sintomatologia mais evidente é a hipertonia muscular, que se manifesta mais comumente como uma escoliose, acompanhada da hipertonia dos membros anterior e posterior do lado da concavidade do tronco (Fig. 1). Ocasionalmente é só a escoliose que se faz notar. Mais raramente existe apenas a hipertonia dos dois membros posteriores (Fig. 2), devendo isto ser conseqüência de particularidades na absorção da toxina injetada. Nos animais menores ou com as doses maiores pode observar-se comprometimento mais generalizado, como pêlo eriçado e maior emagrecimento. Neste grupo de animais não há evidência de comprometimento respiratório, não aparecem espasmos ou a "síndrome cefálica".

Fig. 1 — Camundongo injetado com 0,5 DMM de toxina tetânica 150 horas antes.

Fig. 2 — Do mesmo grupo que o animal da figura anterior mas apresentando quadro clínico diferente.

Com 0.1 e 0.25 DMM só os animais menores têm sintomas. Estas doses são compatíveis com a sobrevida e mesmo com 0.5 DMM apenas um dentre dez animais vem a morrer, se bem que todos tenham sinais clínicos. A recuperação se faz ràpidamente, já com 400 horas não restando sinais do tétano.

Grupo II — Tempo de incubação de 15-50 horas (1.0-5.0 DMM).

Todos os animais têm sinais de tétano e todos vêm a morrer da doença.

A rigidez muscular, em tudo semelhante àquela do grupo anterior, sempre está presente, a sua intensidade não guardando relação com o tempo de sobrevida. Além da hipertonia observa-se comprometimento generalizado, com taquipnéia e hiperpnéia, pêlo eriçado e às vêzes priapismo. Os animais exibem a "síndrome cefálica" já registrada por PILLEMER & WARTMAN [13], com epistaxe, repuxamento dos músculos faciais e secreção ocular que recobre em crostas a rima palpebral.

Os animais não têm convulsões ou espasmos generalizados. Ao manuseio, que sobremaneira abrevia o tempo de sobrevida, nota-se com freqüência a parada respiratória e subseqüente "gasping", via de regra seguida de morte. Não sabemos se houve nestes animais espasmo de glote ou espasmo de tôda a musculatura respiratória. Durante êste acidente o animal esvazia a bexiga.

Grupo III — Tempo de incubação médio de 9 horas (100 DMM).

A escoliose e a rigidez dos membros é inconstante e menos acentuada. Em lugar da escoliose notamos por vêzes o aparecimento de uma "corcunda", isto é, uma lordose lombar acentuada.

Os outros sinais clínicos são idênticos aos do grupo anterior.

Grupo IV — Tempo de incubação menor que 8 horas (10.000 e 40.000 DMM).

Só em dois animais pudemos observar hipertonias musculares, com discreta escoliose. Predomina, ao contrário, a paralisia de tôda a musculatura, que se inicia via de regra pelo pescoço e cintura escapular. Ao caminhar o animal apoia a cabeça sôbre as patas dianteiras, como se fôra excessivo o pêso a suportar. A respiração é rápida e empenha tôda a musculatura, o tronco arqueando-se a cada movimento respiratório. Próximo ao fim intercalam-se períodos de apnéia, provàvelmente por exaustão física.

Quando a deambulação não é mais possível o animal tem aspecto "em ampulheta" (Fig. 3), já assinalado por PILLEMER & WARTMAN [13]. Segundo a nossa interpretação, porém, isto independe de retração diafragmática, como quiseram êstes autores, mas da paralisia da parede abdominal, que toca o solo. Quando o animal fôr dependurado pela cauda não consegue esboçar nenhum movimento de defesa: está flácido como uma boneca de pano.

Fig. 3 — Animal injetado 4 horas antes com 40.000 DMM de toxina tetânica.

Com doses maciças como estas não se verificam espasmos, não há "gasping" nem "síndrome cefálica". Notamos priapismo sòmente uma vez.

A morte é tranqüila, após um período de aproximadamente o dôbro do tempo de incubação.

2) *Mecanismo de morte*

Temos a impressão que os animais do grupo I e mesmo alguns do grupo II morrem por caquexia, por impossibilidade de se alimentarem. Só os animais mais rígidos vêm a morrer, com uma perda média de pêso de 26%.

As mortes por nós presenciadas nos grupos II e III deram-se após apnéia, por espasmo de glote ou da musculatura respiratória.

Não conseguimos caracterizar a morte no grupo IV por nenhum sinal objetivo. Ao se abrirem os animais após a parada respiratória, ainda está bem corado o sangue arterial e continua batendo o coração. Se anteciparmos o desfecho, sacrificando o animal com éter, notamos que resiste tanto tempo ao anestésico como os animais contrôles.

3) *Perda de pêso durante o tétano* (Fig. 4)

Esta não foi determinada para a série A, em vista do curto tempo de sobrevida. Os dados para a série E mostram que os animais não submetidos ao jejum perdem pêso tardiamente, quando os sinais clínicos já estão avançados. Por ocasião da morte de metade dêstes animais o pêso médio do grupo é de 87% do pêso inicial, confirmando que com 1,5 DMM a morte não se deve à inanição. O mesmo podemos dizer para as séries B e C, com perda média de pêso de, respectivamente, 9 e 5%.

As séries D e E mostram que os animais recuperam o pêso inicial após o jejum, achado a que vamos aludir mais adiante.

4) *Metabolismo durante o tétano* (Fig. 4)

O metabolismo do animal não inoculado, normalmente alimentado, é de 1,01 ml de oxigênio por minuto, em média.

O metabolismo durante o tétano é baixo; esta queda é menos intensa nas séries C, D e E, inoculadas com doses menos maciças de toxina. As divergências que aparecem na série C entre os animais em jejum e os normalmente alimentados se devem, a nosso ver, ao reduzido número de animais examinados.

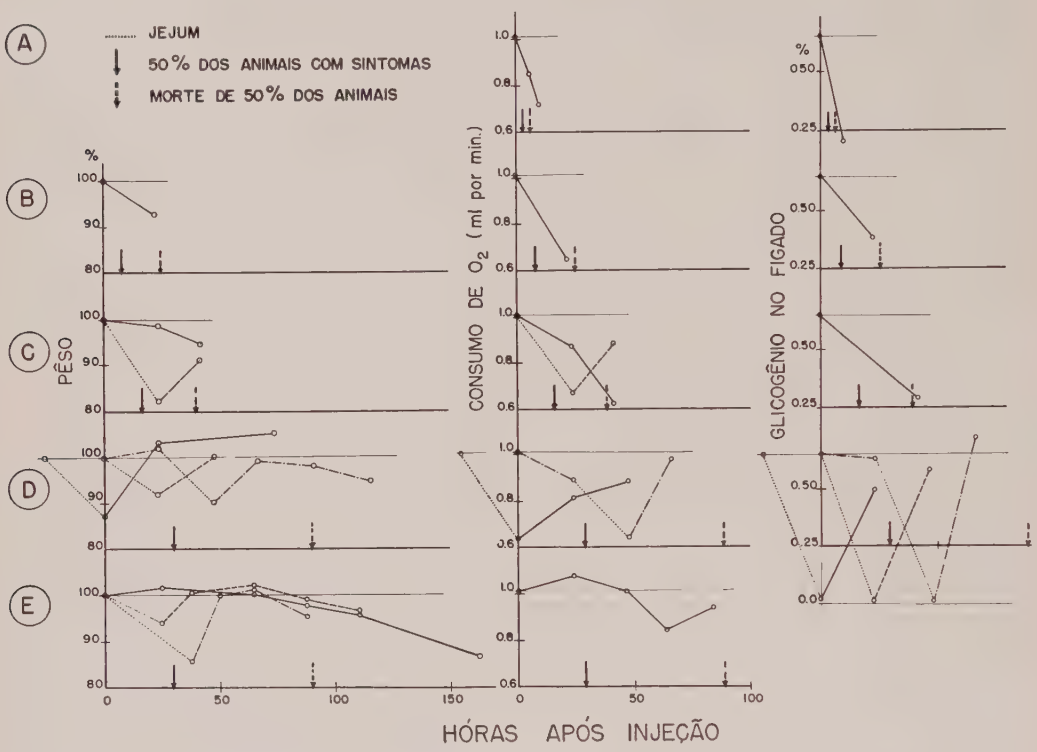

Fig. 4 — Pêso, metabolismo e glicogênio hepático nas 5 séries de experiências (vide Quadro I).

A queda no metabolismo é pronunciada nas séries A e B. Êste ponto será discutido mais adiante.

5) *Glicogênio hepático durante o tétano* (Fig. 4)

O fígado dos animais contrôles contém em média 0,65% de glicogênio.

Apesar de metabolismo mais baixo, verificamos que os animais da série A perdem quase 70% do seu glicogênio nas 10 horas subseqüentes à injeção de toxina. Também foi grande esta perda nas séries B e C.

As experiências da série D indicam que o glicogênio hepático é ressintetizado após jejum, mesmo depois que os sinais clínicos de tétano já se manifestaram.

Não foi dosado o glicogênio nas experiências da série E.

6) *Resistência à asfixia*

São os seguintes os nossos resultados:

QUADRO II

Tempo de sobrevida em ambiente de nitrogênio com 3-5% de oxigênio de animais injetados 48 horas antes com 10 DMM de toxina tetânica, em confronto com animais normais.

Experiência	Tempo de sobrevida (seg.)		Sintomas do animal com tétano
	Tétano	Contrôle	
1	270	125	Escoliose grande.
2	50	180	Escoliose grande.
3	65	110	Rigidez generalizada. Laringospasmo momentos antes.
4	25	60	Escoliose discreta.
5	120	150	Escoliose discreta.
6	345	600	Escoliose discreta.
7	50	230	Escoliose discreta.
8	135	185	Escoliose grande.

Para remover possíveis objeções a esta série de experiências, decidimos repetir os ensaios com animais ainda assintomáticos:

QUADRO III

Tempo de sobrevida em ambiente de nitrogênio com 3-5% de oxigênio de animais injetados 20 horas antes com 10 DMM de toxina tetânica, em confronto com animais normais.

Experiência nº	Tempo de sobrevida (segundos)	
	Tétano	Contrôle
1	135	210
2	330	135
3	105	350
4	135	355
5	80	170
6	150	225
7	75	270
8	180	240
9	230	410
10	110	200

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Pelloja [12] já mostrara que o tempo de incubação no tétano experimental é tanto menor quanto maior fôr a dose de toxina administrada. De um modo geral observa-se o mesmo no tétano humano, que é tanto mais grave (isto é, maior dose de toxina fixada) quanto menor o tempo de incubação.

Anteriormente [9] já dissemos duvidar que as manifestações mais óbvias do tétano humano, como espasmos e hipertonia muscular, pudessem ser invocadas como causa de morte nesta doença. Acreditamos que as nossas experiências em animais de laboratório apoiam esta crença. Os animais do grupo I, mesmo aquêles com considerável rigidez muscular, freqüentemente sobrevivem à enfermidade; espasmos generalizados jamais foram por nós observados, o que acreditamos dever-se à via de administração da toxina. Diversos motivos nos fazem supor que, tivéssemos dado a toxina por via intramuscular, e diferente seria o quadro clínico neste particular.

Doses elevadas de toxina determinam não a hipertonia mas a paralisia flácida de tôda a musculatura. Apesar de não ser lícita a tentativa de fazer um paralelo entre os nossos animais e o tétano humano, já que tão altas quantidades de toxina provàvelmente nunca estarão em jôgo, lembramos que o tétano paralítico é de há muito conhecido [4] e que a paralisia diafragmática já foi por nós verificada numa série de pacientes [9].

Sugerem ainda os nossos dados que o emagrecimento durante a doença provàvelmente é reflexo apenas de má alimentação; certamente não está aumentado o metabolismo do animal inoculado. Mostramos anteriormente [9] que a cetonúria e o exagerado catabolismo das proteínas em nossos pacientes desaparecia uma vez que lhes fornecêssemos carboidratos em quantidade não muito superior àquela necessária em indivíduo normal.

Wensinck & col.[17, 18, 19] mostraram que existe no tétano local e generalizado um bloqueio no metabolismo dos carboidratos. Algumas de nossas observações presentes, bem como estudos "in vitro", objeto de outro trabalho [8] o confirmam. Referem ainda os autores acima mencionados um distúrbio na síntese do glicogênio, achado que não pudemos reproduzir. Os animais das séries C, D e E recuperaram pêso quando realimentados após jejum, e os da série D recuperaram todo o seu glicogênio hepático. A hiperglicemia, tão freqüentemente encontrada no tétano humano [9], parece igualmente indicar que o glicogênio hepático não se encontra exausto.

Também Staudinger [15] pôde encontrar diminuição no glicogênio do fígado no tétano experimental. Os nossos dados permitem acreditar que isto se deva não a distúrbios na síntese, mas a incremento no consumo. Por certo não é resultado de jejum, não só em vista dos achados de nossa série E, mas considerando a série A, onde o glicogênio do fígado cai pronunciadamente no intervalo de algumas poucas horas.

Ora, verifica-se, particularmente nas séries A e B, um acelerado desgaste no glicogênio sem que o consumo de oxigênio sofra acréscimo. Um fenômeno desta natureza já permite afirmar que no distúrbio bioquímico desencadeado pela toxina tetânica certamente não participa um "desacoplamento" da fosforilação oxidativa, como ocorre com os hormônios da tireóide e nas intoxicações por dinitrofenol e outras substâncias [2]. Lembra antes uma degradação incompleta dos carboidratos.

Estas alterações não são específicas do tétano. A simples injeção de epinefrina no animal de laboratório causa pronunciado desgaste no glicogênio hepático uma hora após a injeção, como mostraram WALAAS & WALAAS [16]. O aumento no consumo de glicogênio já foi observado por LE PAGE no choque hemorrágico [11] e no choque traumático [10]. GREEN & STONER [5] mostraram exaustão do glicogênio e diminuição no consumo de oxigênio nos estados de choque, admitindo a existência de um bloqueio no metabolismo dos carboidratos. BORN [3], contudo, acha êste conceito por demais simplista, mostrando que a administração de hexose difosfato, piruvato e succinato ao animal não se mostra eficaz no tratamento dêstes quadros clínicos. AMBROSOLI & SCARPIONI [1] estudaram o choque pelo esmagamento ("Crush syndrome"), encontrando diminuição no glicogênio do fígado e aumento na glicose-1-fosfato e glicose-6-fosfato. Acreditam num bloqueio dêste estágio em diante.

Esperar-se-ia que a diminuição do metabolismo do animal se acompanhasse de aumentada resistência à asfixia, desde que as outras condições não mudassem. Mas não é isto que verificamos: mesmo na fase de incubação do tétano é sensìvelmente mais reduzido o tempo de sobrevida a atmosferas pobres em oxigênio. Não acreditamos que isto se deva à exaustão do glicogênio dos tecidos. SMITH & OSTER [14] mostraram que os gatos em jejum resistem mais à asfixia e em experiências não incluídas neste trabalho verificamos que o mesmo se aplica ao camundongo. Além disto, o fígado de nossos animais ainda continha 0,44% de glicogênio 20 horas após a administração de toxina tetânica, quando foram feitas as experiências reproduzidas no Quadro III. Quanto ao encéfalo, é sabida a tenacidade com que mantém íntegro os seus estoques de glicogênio.

HIMWICH [7] mostrou que a injeção de inibidores da glicolise diminui o tempo de sobrevida à asfixia. Também os nossos dados atuais podem ser interpretados como mais um indício da existência de um bloqueio bioquímico no tétano experimental, tese que será debatida mais pormenorizadamente em outro trabalho [9].

SUMMARY

Studies on the cause of death in tetanus. IV — Experimental tetanus in white mice: clinical features, oxygen consumption, liver glycogen and resistance to asphyxia.

In this preliminary study on experimental tetanus the clinical features following the injection of various amounts of tetanal toxin were first studied. Small dosis of toxin will result in muscular hypertonia while massive dosis result in complete paralysis, after a period of incubation and survival time very much shortened. In animals injected with small dosis of tetanal toxin hypertonia is not a hindrance to life and complete recuperation may ensue. Generalized paroxysmal spasms were never seen in these animals, which we take as an indication that the cause of death in tetanus must be looked for elsewhere.

Animals injected with 1.5 and 4.0 MLD (guinea pig units) return to their normal weight after a period of fasting, even after the period of incubation. We have also found that liver glycogen in the group injected with 4.0 MLD returns to normal after feeding is resumed; this means that the "biochemical lesion" in tetanus does not affect glycogen synthesis or else occurs only as a terminal event.

Despite a marked fall in liver glycogen the oxygen consumption after 40,000 and 100 MLD decreases; this is evidence of incomplete degradation of carbohydrates.

Survival time at low oxygen tensions is markedly decreased in the animals with tetanus, even when these are tested at a time clinical signs are not yet evident. This we take to be one more indication of a block in carbohydrate metabolism.

It is clear after a review of world literature that these findings are not specific to tetanus. We are also undecided whether they ought to be considered the "cause of death" in this disease or are just incidentally connected with a more profound and extensive disturbance.

REFERÊNCIAS

1. AMBROSOLI, S. & SCARPIONI, L. — Sul comportamento di alcune attività enzimatiche interessante nel ciclo glicolitico in corso di shock. Giorn. Clin. med. **39**:593-612, 1958.

2. BALDWIN, E. — Dynamic aspects of biochemistry. 3rd. ed. Cambridge, Oxford Univ. press, 1957.

3. BORN, G. V. R. — Some effects of injury on metabolism. (*In* FLOREY, H., ed. — General pathology. 2nd. ed. London, Lloyd-Duke, 1958. p. 227-254).

4. COURTOIS-SUFFIT, M. & GIROUX, R. — Les formes anomales du tétanos. Paris, Masson, 1916.

5. GREEN, H. N. & STONER, H. B. — Effects of injury on carbohydrate metabolism and energy transformations. Brit. med. Bull. **10**:38-41, 1954.

6. HAWK, P. B.; OSER, B. L. & SUMMERSON, W. H. — Practical physiological chemistry. New York, Blakiston, 1954.

7. HIMWICH, H. E. — Brain metabolism and cerebral disorders. Baltimore, Williams & Wilkins, 1951.

8. KLOETZEL, K. — Estudos sôbre a causa de morte no tétano. V. Investigações "in vitro" sôbre a respiração aeróbica e anaeróbica de tecidos de camundongos inoculados com toxina tetânica. [no prelo].

9. KLOETZEL, K. — Studies on the cause of death in tetanus. [no prelo].

10. LEPAGE, G. A. — Biological energy transformation during shock as shown by tissue analyses. Amer. J. Physiol. **146**:267-281, 1946.

11. LEPAGE, G. A. — The effects of hemorrhage on tissue metabolites. Amer. J. Physiol. **147**:446-453, 1946.

12. PELLOJA, M. — Le tétanos expérimental par la toxine tétanique. Paris, Masson, 1951.

13. PILLEMER, L. & WARTMAN, W. B. — The clinical behavior, incubation period, and pathology of tetanus induced in white Swiss mice by injection of crystalline tetanal toxin. J. Immunol. **55**:277-281, 1947.

14. SMITH, D. C. & OSTER, R. H. — Influence of blood sugar levels on resistance to low oxygen tension in the cat. Amer. J. Physiol. **146**:26-32, 1946.

15. STAUDINGER, H. — Ueber de Kohlenhydrathaushalt bei experimentellem Wundstarrkrampf. Klin. Wchnschr. **23**:57-61, 1944.

16. WALAAS, O. & WALAAS, E. — Effect of epinephrine on rat diaphragm. J. biol. Chem. **187**:769-776, 1950.

17. WENSINCK, F. — Onderzoekingen over de biochemische werking van het tetanustoxine. Utrecht, 1952. Tese.

18. WENSINCK, F.; BOVÉ, J. J. & RENAUD, H. — Glycolysis by muscle extracts in local tetanus. Brit. J. exper. Pathol. **34**:681-686, 1953.

19. WENSINCK, F. & COHEN, J. A. — Carbohydrate metabolism in local and generalized tetanus. Biochim. biophys. Acta **10**:184-185, 1953.

Recebido para publicação em 5 dezembro 1961.

Rev. Inst. Med. trop. São Paulo
3(6):298-303, novembro-dezembro 1961

CDU 576.8.097

Conferências, Aulas e Cursos

FUTURO DA IMUNOLOGIA [1]

Pierre GRABAR

Para terminar êste curso pediram-me uma aula especial. Seu título poderia fazer pensar numa profecia. Entretanto, como não possuo dom de profeta, tentarei simplesmente falar sôbre alguns aspectos gerais dos problemas imunológicos, bem como das possibilidades que nos oferecem os conhecimentos já adquiridos.

Dois aspectos serão considerados:

I. A imunologia pròpriamente dita e

II. A aplicação das reações imunológicas ao estudo de outros problemas.

I. *Imunologia pròpriamente dita* — Tendo seguido êste curso, puderam os senhores tomar conhecimento da enorme quantidade de trabalhos efetuados no domínio da Imunologia, do acúmulo considerável de dados experimentais. Mais ainda, viram que existem observações contraditórias. E, finalmente, puderam constatar que a maioria das teorias se baseia em hipóteses que freqüentemente não são e nem mesmo podem ser controladas por experiências indiscutíveis. É fácil notar que, em sua maioria, os fenômenos imunitários mais fundamentais não estão bem esclarecidos, existindo lacunas importantes em nossos conhecimentos.

Tomemos alguns exemplos.

1) É manifesta a imprecisão de definições importantes da imunidade chamada "específica", como as de antígeno e de anticorpo. Isto resulta do fato de ignorarmos porque uma substância pode ser antigênica. Admitimos que se trata de determinada estrutura química de uma molécula e da configuração espacial de grupamentos químicos desta estrutura. Já conhecemos alguns dêstes grupamentos específicos nos antígenos naturais de natureza poliosídica, mas não ainda nas proteínas. Os estudos sôbre os polipeptídios sintéticos mostraram que a introdução de um grupo cíclico e/ou de grupamentos polares favorece a antigenicidade. Parece, entretanto, que êstes fatos não bastam e a questão sôbre as razões precisas da antigenicidade permanece ainda aberta.

2) A situação é menos nítida quando se considera o mecanismo da formação dos anticorpos. Tôda uma série de questões fica sem resposta precisa. Vejamos algumas:

a) Entre o momento da penetração do antígeno e o aparecimento dos anticorpos, existe um tempo de latência. O que sucede ao antígeno durante êsse tempo? O antígeno ou seus produtos de degradação são encontrados no interior das células. Mas não se sabe se sua presença em determinadas células tem qualquer significação. Poder-se-ia mesmo supor que não desempenham papel importante e que nada mais são do que depósitos fortuitos.

b) O mecanismo de síntese das moléculas de anticorpo é também desconhecido e está compreendido num problema geral de bioquímica — o da biossíntese das proteínas. Como os senhores sabem, no momento, o que conhecemos dessa questão está no terreno das hipóteses.

c) O mesmo se diga em relação aos mecanismos da reação secundária e da dose de reforço.

(1) Aula proferida no "Curso de Imunologia Geral e Sorologia" do Instituto Pasteur de Paris, a 24 de junho de 1961.

d) Não conhecemos também o que acontece com os complexos antígeno-anticorpo, gerados quando o antígeno penetra no organismo imunizado. Admite-se em geral que os complexos sejam fagocitados, mas o resto é ignorado. Supõe-se que haja degradação enzimática do antígeno, mas não se sabe se a união ao anticorpo favorece tal degradação.

3) Entre os fenômenos imunológicos importantes, destaca-se um de descoberta recente — o fenômeno da tolerância imunológica adquirida, que apresenta não sòmente considerável interêsse teórico, mas que poderá ter aplicações práticas importantes. O mecanismo exato dêste fenômeno não está ainda elucidado, mas está certamente ligado às duas questões precedentes: a antigenicidade e a intervenção dos antígenos no mecanismo de formação dos anticorpos. É provável, portanto, que êsse fenômeno seja melhor compreendido quando se encontrarem as respostas àquelas questões.

4) É o que sucede também com outro problema muito importante, atualmente na ordem do dia — o da auto-antigenicidade. Não possuímos, no momento, senão explicações baseadas em hipóteses mais ou menos bem fundamentadas.

A questão só será bem elucidada quando se conhecerem os problemas correlatos da antigenicidade e do mecanismo de formação dos anticorpos.

*
* *

Tais exemplos mostram bem que problemas fundamentais permanecem ainda mal compreendidos. Ainda há muito assunto para os pesquisadores.

Contudo, não somos totalmente ignorantes e do conjunto de fatos já conhecidos é possível tirar um certo número de conclusões gerais. É, justamente, o que tentarei fazer, passando em revista algumas das noções que foram expostas neste curso.

Quando se fala em imunidade, classificam-se geralmente os mecanismos de defesa dos organismos superiores em dois grupos: 1) as defesas naturais não específicas e 2) os mecanismos imunitários específicos.

1 — No primeiro grupo encontra-se uma série de fatôres muito díspares, indo das defesas naturais passivas, como as barreiras naturais (pele, mucosas, pH do suco gástrico ou do suor, etc.) até mecanismos bem definidos, como a fagocitose ou a ação lítica do complemento. Ora, como os senhores sabem, a fagocitose e a ação do complemento são particularmente facilitadas pelos anticorpos. Portanto, se bem que estas duas atividades não sejam de *per se* específicas, dela participam os fatôres específicos.

Notemos, a êsse respeito, que a questão dos anticorpos chamados "naturais" parece atualmente mais bem definida. Designavam-se sob a denominação de "anticorpos naturais" substâncias que tinham as propriedades específicas dos anticorpos, mas de origem não definida e encontradas nos soros ditos "normais". As constatações feitas em animais criados estèrilmente ("germ free animals") confirmaram a hipótese de que os "anticorpos normais" são verdadeiros anticorpos, que aparecem em conseqüência a infecções inaparentes ou simplesmente após penetração da substância antigênica no meio interior de um animal ou do homem.

Vemos, assim, que, dentre os mecanismos clàssicamente colocados na categoria dos mecanismos de defesa "não específicos", os anticorpos desempenham papel relevante.

Que dizer das outras defesas "não específicas"? Descreveram-se sob nomes diferentes, as atividades bactericidas ou anti-infecciosas de diversos humores. Infelizmente, os ensinamentos que possuímos hoje sôbre seu modo de ação são geralmente mal definidos e freqüentemente controvertidos. Exemplo: o caso da properdina.

Pode-se, contudo, considerar as atividades bactericidas diretas. Assim, sabe-se que as lágrimas e o sôro contêm lisozima, que possui forte atividade enzimática sôbre substâncias capsulares microbianas.

É evidente que outras enzimas podem também intervir nos mecanismos antiinfecciosos. Seria, entretanto, um pouco demais finalista classificá-las como mecanismos de defesa natural.

2 — Quando se fala de "*fatôres imunitários específicos*", pensa-se, sobretudo, em anticorpos.

O fato de que a existência de anticorpos foi inicialmente verificada após uma infecção, introduziu a noção de que os anticorpos representavam um mecanismo específico de defesa. Essa idéia está profundamente arraigada na Imunologia. Contudo, refletindo-se um pouco, conclui-se que ela não é de nenhum modo correta. Com efeito, sabemos atualmente:

a) Que tôda substância antigênica pode provocar a formação de anticorpos;

b) que, dentre os anticorpos produzidos por um animal contra os constituintes microbianos, por exemplo, sòmente alguns participam da defesa do organismo contra a infecção, enquanto que outros são apenas testemunhos da passagem do antígeno pelo organismo;

c) que o organismo pode formar anticorpos contra quaisquer proteínas, mesmo introduzidas por via oral, como, por exemplo, nas experiências de Farr. Êste autor deu a coelhos, por via oral, soluções de sôro-albumina bovina (SAB) e constatou o aparecimento no sôro de uma pequena quantidade de anticorpos anti-SAB;

d) há vários anos verifiquei que o sôro de animais chamados "normais" pode dar reações imunológicas (hemaglutinação passiva) com diversos produtos macromoleculares naturais, tais como glicogênio, amido, gelatina, dextran e, no caso de soros de cães, com a sôro-albumina bovina;

e) por outro lado, conhecem-se numerosos casos onde os anticorpos podem provocar conseqüências nefastas: alergia, lesões provocadas pela auto-imunização.

O conjunto dêstes fatos fala a favor da hipótese que eu já lhes mencionei em minha aula sôbre anticorpos, que considera a anticorpogênese não como um mecanismo especial de defesa, mas como um mecanismo fisiológico geral de síntese das globulinas, cujo papel é o de servir de "transportadores". Nas condições habituais, estas globulinas transportariam produtos de metabolismo ou do catabolismo, mas se uma substância antigênica estranha penetra no meio interno, o mesmo mecanismo sintetizará globulinas que se unirão especìficamente ao antígeno. Entre estas globulinas haverá algumas que, ao se conbinarem com certos antígenos (por exemplo, micróbios ou vírus), favorecerão a defesa do organismo contra êste agente patogênico ou suas toxinas, etc. Ao contrário, outras globulinas não terão qualquer efeito protetor e, às vêzes mesmo, acarretarão conseqüências desagradáveis.

Essa maneira de encarar o problema da formação dos anticorpos apresenta, a meu ver, um certo número de vantagens. Além disso, salienta o fato de que a formação dos anticorpos é um fenômeno muito geral.

Um segundo fato muito geral é a reação antígeno-anticorpo, incluída mesmo na definição clássica dos anticorpos. Se a formação de anticorpos pode ser considerada como um fenômeno biológico, pois se trata da biossíntese de uma proteína, a união do antígeno com seu anticorpo é um fenômeno puramente físico-químico.

Sabemos atualmente que as reações entre o antígeno e anticorpo podem-se manifestar de diferentes maneiras: algumas vêzes chegam à precipitação, outras não; algumas vêzes, fixam o complemento, outras, pouco ou nada, etc. Essas diversas observações encontram fácil explicação no fato de que os anticorpos não são todos idênticos.

a) Sabemos que existe uma heterogeneidade em suas especificidades: mesmo contra um antígeno puro e homogêneo, há formação de vários anticorpos diferentes, que reagem com partes diferentes da molécula;

b) Os anticorpos são também heterogêneos do ponto de vista físico-químico: pêso molecular, mobilidade eletroforética. Tal heterogeneidade pode explicar as diferentes manifestações da união antígeno-anticorpo, por exemplo sua insolubilização, quando numerosos grupamentos que mantêm em solução as macromoléculas reagentes estão bloqueados em conseqüência de sua união.

Mas a reação antígeno-anticorpo não se limita sempre a essas conseqüências simples. Com efeito, quase todos os fenômenos imunológicos específicos conhecidos são conseqüência desta reação.

Parece que a primeira poderia ser o aparecimento de grupamentos-SH livres. Há dois anos, em colaboração com Prudhomme e Mme. Robert, verificamos que a reação

in vitro entre um antígeno protéico ou um hapteno poliosídico e seus anticorpos libera grupamentos-SH. Êste fato tem sido confirmado e pudemos mesmo apreciá-lo quantitativamente por amperometria.

Como acabo de dizer, acredito que esta liberação de grupamentos-SH possa ser a primeira das conseqüências da união antígeno-anticorpo, desencadeando, em seguida, outros fenômenos. Com efeito, sabemos que os grupamentos-SH são muito reativos e que participam freqüentemente da atividade enzimática. O aparecimento de grupamentos dêsse tipo poderia ser a causa da ativação de um pro-enzima.

Assim, existe na literatura indicação de que na reação de fixação do complemento os grupamentos-SH são necessários. Por outro lado, sabe-se também que a liberação de histamina e de substâncias análogas, que é a base das manifestações anafiláticas, é inibida por substâncias que bloqueiam os grupamentos-SH. Em experiências recentes constatamos que, quando se prepara anafilatoxina pelo tratamento de sôro de rato com poliosídios, há também liberação de grupamentos-SH. No momento seria imprudente tirar a conclusão de que nossa observação constitui o fundamento da fixação de complemento e da liberação de histamina, mas o paralelismo parece prometedor.

De qualquer modo, pode-se admitir que a união antígeno-anticorpo pode provocar fenômenos como o choque anafilático ou a lise de células (hemólise ou lise de células bacterianas, ou lise de células por efeito citotóxico dos anticorpos), e que êstes fenômenos estão ìntimamente ligados às ações enzimáticas.

É necessário frisar que para a lise das células é necessária a participação do complemento, e que até o presente não se observou lise senão quando o antígeno em jôgo está situado na superfície de uma célula.

O problema da situação do antígeno numa célula tratada por um imune-sôro foi recentemente discutido e verificou-se que não se conhece bem o que acontece a uma célula colocada em presença de anticorpos específicos contra os constituintes intracelulares. O único exemplo seria a ação sôbre o núcleo dos leucócitos dos soros de casos de lupus eritematoso, que contém anticorpos anti-DNA. Ora, êsse problema é certamente muito importante: por exemplo, na neutralização dos vírus intracelulares, na ação antiparasitária e, provàvelmente, nos problemas imunológicos do câncer. Poder-se-ia perguntar se o fenômeno de *facilitação* não é devido a uma ação de anticorpos anticonstituintes intracelulares. O fenômeno da *facilitação* ("enhancement") foi descrito há vários anos: trata-se de uma proliferação acelerada de um tumor transplantado num animal que foi antes imunizado por macerados do mesmo tumor liofilizado. Estas experiências lembram as observações antigas de METCHNIKOFF, BESREDKA & CANTACUZÈNE, que trataram animais e homens por pequeníssimas quantidades de imune-sôro antileucócitos. Tal tratamento provoca hiperleucocitose acentuada. Poder-se-ia perguntar se êstes soros imunes que eram citotóxicos (provocavam a lise dos leucócitos), quando utilizados em doses fracas teriam atividade diferente daquela observada com doses fortes.

Várias explicações diferentes podem ser dadas ao fenômeno de *facilitação*, mas é certo que se trata de uma ação de anticorpos que se encontram no sôro, das quais é preciso pouco para provocar uma proliferação celular. Penso que êste fenômeno pode desempenhar papel importante em cancerologia.

De tudo que ficou dito sôbre os mecanismos específicos da imunidade, pode-se tirar a conclusão de que existem dois fenômenos gerais: a formação de anticorpos e a reação antígeno-anticorpo. Esta última pode acarretar conseqüências variadas que dependem de outros fatôres e nos quais intervêm mecanismos diferentes, entre os quais, atividades enzimáticas.

*
* *

Como os senhores sabem, a penetração de alguns antígenos num organismo determina reações de tipo retardado, chamadas freqüentemente de "tipo tuberculínico". Estas reações não podem ser transmitidas passivamente pelo sôro, mas sòmente pela transferência de elementos celulares; não se trataria, portanto, dos anticorpos comuns do sôro.

O mecanismo preciso destas reações não foi ainda elucidado, mas sabe-se que reações dêste gênero têm grande importância não

sòmente nos casos de alergia tuberculínica ou devida a outros microorganismos, mas também na rejeição dos transplantes e, provàvelmente, nos casos de auto-imunização. Alguns acreditam que se trata, nestes casos, também da formação de anticorpos, mas em nível tão baixo, que não se pode detectá-los no sôro. Entretanto, a maior parte dos imunologistas admite que, neste caso, o mecanismo deva ser diferente.

II — *Utilização dos métodos imunológicos* — Como foi dito no início desta lição, ao lado de problemas imunológicos pròpriamente ditos, a imunologia moderna pode também ajudar a resolver problemas diferentes. Com efeito, o imunologista pode preparar à vontade reativos altamente específicos, os anticorpos. O emprêgo consciencioso dêstes reativos permite numerosas pesquisas. Podemos agrupar as principais possibilidades de aplicação dos métodos imunológicos em três categorias:

1) Demonstração da presença de uma substância.

2) Observação de modificações de uma substância.

3) Determinação da estrutura de uma substância.

1) A especificidade e a sensibilidade das reações antígeno-anticorpo permitem a demonstração de quantidades mínimas de uma substância. Em princípio, sòmente as substâncias antigênicas ou os haptenos podem ser demonstrados, mas poder-se-iam considerar também substâncias de molécula pequena. Com efeito, fixando-as sôbre proteínas, poderíamos obter antígenos artificiais que provocariam a formação de anticorpos específicos contra essas pequenas moléculas.

Em minha aula sôbre análise imuno-eletroforética, citamos um certo número de exemplos de resultados obtidos graças a êste método. Êle permite, com efeito, não sòmente separar os constituintes de uma mistura, demonstrar a existência dêstes constituintes, mas também defini-los por suas mobilidades eletroforéticas e, às vêzes, por meio de colorações específicas.

Outros métodos podem também prestar bons serviços. O método de precipitação em tubos contendo meio gelificado, segundo Oudin (difusão simples), pode ser utilizado até certo ponto para apreciações quantitativas. O método de Ouchterlony (dupla difusão) em placas é muito útil para a comparação de diferentes substâncias antigênicas, a fim de estabelecer sua identidade ou diferenças.

Enfim, o método quantitativo de precipitação específica de Heidelberger & Kendall permite dosar os antígenos.

Outros métodos imunológicos são menos utilizados em pesquisas dêste gênero. Mas a grande sensibilidade de certos métodos, tais como a anafilaxia cutânea passiva (Ovary) ou a hemaglutinação passiva (Boyden), permite fazer constatações interessantes, do mesmo modo que o emprêgo do choque anafilático direto. O emprêgo de anticorpos marcados por corantes fluorescentes ou por elementos radioativos permite, às vêzes, precisar a origem ou a posição intracelular de uma substância.

Em suma, pode-se, escolhendo judiciosamente o material e o método:

a) Demonstrar a presença de uma substância em misturas complexas e sua dosagem.

b) Demonstrar a presença de uma impureza.

c) Separar e definir os constituintes de uma mistura.

d) Comparar substâncias de origens diferentes e estabelecer o parentesco entre elas.

e) Demonstrar a origem ou o local de formação de uma substância antigênica, etc.

2) Quando se procura demonstrar a modificação de uma substância, pode-se também fazer uso de métodos imunológicos. Com efeito, se a modificação em causa atinge parte da molécula portadora de um grupamento determinante, sua reação com o anticorpo será modificada. Por outro lado, se a modificação se dá numa parte da molécula que intervém em suas propriedades físico-químicas, pode-se, por exemplo, constatar uma mobilidade eletroforética diferen-

te. Nestes casos, a análise imuno-eletroforética já prestou bons serviços. A análise quantitativa, as curvas de precipitação específica fornecem também ensinamentos preciosos.

3) E, para terminar, gostaria de assinalar o interêsse das reações imunológicas nos estudos sôbre a estrutura de macromoléculas naturais.

Até o presente foram os estudos sôbre os polisídios que forneceram os resultados mais notáveis. Como os senhores certamente sabem, foi utilizando reações de inibição quantitativa da precipitação específica, que se chegou a precisar a estrutura fina das ligações entre os açúcares simples nos polio-sídios. A análise química destas estruturas foi, dêste modo, enormemente facilitada.

No entanto, pesquisas análogas sôbre a estrutura fina das proteínas, de lípides polimerizados e dos ácidos nucléicos encontram dificuldades. Não é impossível que essas dificuldades residam no fato de existirem, por exemplo, nas moléculas protéicas (e nos ácidos nucléicos), estruturas em hélice. Os grupamentos externos não correspondem à seqüência real dos ácidos aminados na cadeia peptídica. Entretanto, pode-se esperar que os estudos sôbre polipeptídios sintéticos, de um lado, e sôbre produtos de degradação de proteínas naturais de outro, forneçam em breve ensinamentos preciosos sôbre a estrutura das proteínas.

Livros recebidos

AMATO NETO, V.; CAMPOS, R. & FERREIRA, C. S. — DIAGNÓSTICO DAS PARASITOSES INTESTINAIS PELO EXAME DAS FEZES. São Paulo, Atheneu, 1961, 122 págs., 55 figs.

As parasitoses intestinais incidem com grande freqüência em nosso meio, principalmente nas zonas rurais. Numerosos protozoários e helmintos são responsáveis por quadros clínicos de gravidade variável, alguns com acometimentos orgânicos capazes, às vêzes, de incapacitarem os indivíduos atingidos.

Na prática clínica rotineira, nos inquéritos epidemiológicos e contrôles de campanhas sanitárias correlatas, o exame parasitológico das fezes constitui o método mais simples e o menos trabalhoso para o diagnóstico dessas parasitoses. Laboratoristas, médicos ou não, precisam estar convenientemente habilitados a reconhecer, nas fezes, protozoários, larvas e ovos de helmintos.

Reconhecendo a importância do assunto, os Drs. Vicente Amato Neto, Rubens Campos e Clâudio Santos Ferreira (1961), acabam de publicar, sob os auspícios do "Fundo Editorial Procienx", um livro que enriquece as nossas letras médicas. "Diagnóstico das parasitoses intestinais pelo exame das fezes" vem preencher, segundo a palavra autorizada do Dr. Marcelo O. A. Correia, sensível lacuna em nossa literatura médica, em setor de alto interêsse laboratorial.

Os Autores do presente compêndio possuem larga experiência clínica e de laboratório no trato de tais problemas. Souberam selecionar os métodos de exame mais indicados para o diagnóstico das diversas protozooses e verminoses, aconselhando minúcias aparentemente de somenos significado, porém de suma importância na prática.

Escrito em linguagem rigorosamente técnica, com os métodos de exame acompanhados prèviamente da descrição dos protozoários, larvas e ovos de helmintos mais encontradiços em nosso meio, ao lado de fotografias ilustrativas cuidadosamente efetuadas, o livro de Amato Neto, Campos & Ferreira é, indiscutìvelmente, de grande alcance prático e de manuseio indispensável a todos aquêles que, de qualquer maneira, orientem ou pratiquem a execução de exame parasitológico das fezes.

A fim de não abandonar o espírito prático que norteou a feitura dêste trabalho e não desejando torná-lo desnecessàriamente extenso, sòmente foram consideradas dignas de referência as parasitoses intestinais até agora evidenciadas no Brasil, na qualidade de autóctones. As soluções e outras preparações utilizadas a propósito das diversas técnicas tiveram suas elaborações explicadas na parte final da publicação.

O livro em aprêço inicia-se com o estudo dos caracteres morfológicos dos protozoários, os quais dependem ìntimamente do método de exame e do tipo de coloração empregados. Os métodos de coloração, para os protozoários, permitem melhor visualização de detalhes morfológicos distintos e, sobretudo, apreciação das estruturas nucleares. Os AA. usam e recomendam, como corantes, a solução de Lugol para a identificação das formas císticas e a hematoxilina férrica para a caracterização dos trofozoítos e cistos. São, então, descritos a *Entamoeba histolytica*, a *E. coli*, a *Endolimax nana*, a *Iodamoeba bütschlii*, a *Dientamoeba fragilis*, a *Giardia lamblia*, o *Chilomastix mesnili*, o *Trichomonas hominis*, o *Balantidium coli*, a *Isospora belli* e a *Isospora hominis*.

Quanto aos helmintos, suas larvas e ovos, mais comumente encontrados parasitando o intestino do homem, não apresentam maiores dificuldades no que diz respeito ao seu reconhecimento específico. Por serem de tamanho relativamente grande e de morfologia bem diversa, não há necessidade de emprêgo de técnicas especiais de coloração, como acontece com os protozoários intestinais. No entanto, como referem os AA., algumas recomendações são oportunas, para lembrar ao examinador possíveis modificações de forma que podem sofrer as larvas e ovos, antes e durante a execução do exame parasitológico das fezes. Os ovos dos helmintos são bastante resistentes às influências externas, salientando-se nesse particular os de *Ascaris*

lumbricoides e *Trichocephalus trichiurus*, que chegam a manter-se íntegros durante meses. Quando as fezes são deixadas em temperatura ambiente durante dois ou três dias, os ovos de ancilostomídeo evoluem, podendo eclodir larvas, que serão encontradas ao exame. As larvas de *Strongyloides stercoralis* resistem pouco às baixas temperaturas e, por isso, o material não deve ser deixado em geladeira por muito tempo.

Foram apreciados, a seguir, os aspectos morfológicos dos helmintos mais freqüentemente encontrados em nosso meio, a saber: *Schistosoma mansoni*, *Taenia* sp., *Hymenolepis nana*, *H. diminuta*, ancilostomídeo, *Trichostrongylus* sp., *Strongyloides stercoralis*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichocephalus trichiurus* e *Enterobius vermicularis*.

A descrição completa das técnicas recomendadas e o preparo dos reativos e soluções encerram o excelente compêndio dos ilustrados colegas paulistas, integrantes do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. Facilitando o trabalho dos não familiarizados com tarefas dessa ordem, abordando com larga experiência pessoal, técnicas selecionadas para o diagnóstico das parasitoses intestinais, o livro de Amato Neto, Campos & Ferreira enaltece os seus autores e a Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

O "Instituto Farmacêutico de Produtos Científicos Xavier", que contribuiu para a publicação de mais êsse livro, está igualmente de parabéns, pela louvável e patriótica iniciativa de difundir a nossa literatura médica.

CARLOS DA SILVA LACAZ
Diretor do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo

ERRATA

PRESERVAÇÃO DE CULTURAS MICROBIANAS POR PROCESSOS SIMPLES, COM ESPECIAL REFERÊNCIA AOS ESTREPTOCOCOS

Carlos SOLÉ-VERNIN

Por ter saído com incorreções, republicamos o sumário em inglês do trabalho acima, que constou do vol. 3, n.º 1, pg. 1-8.

Preservation of microbe cultures by simple techniques, with special regard to streptococci.

Maintainance of microbe cultures demand preservation of the original characteristics of the samples and not only their viability. As regards medical microbiology, the most important characteristics are those concerned with identification of the sample and those related to pathogenicity factors. For a great many microbial species lyophilization is the best preservation technique but it is not available to all laboratories.

The present paper deals with observations on three preservation techniques of which the basic feature is the technical accessibility: microbial cultures or suspensions, 1) in sterile defibirinated blood of normal rabbits; 2) in inactivated serum of normal rabbits, to which coal has or has not been added (especially for viruses); 3) in inactivated serum of normal rabbits, to which an equal amount of a half-and-half solution of egg yolk in saline has been added (especially for the genus *Mycobacterium*).

The cultures were kept in flame-sealed 1 ml ampules, at room temperature and in the dark.

423 samples of microbes pertaining to a number of families, genera and species have been observed. Among these there were 367 bacteria (streptoccoci numbering 222), 6 viruses, 48 fungi and yeasts, 1 green alga and 1 protozoon.

The longest period of observation has been of 29 months (for streptococci). All characters of taxonomic importance and those related to pathogenicity factors have been preserved for as long as the viability was maintained; moreover, there were cases in which the samples recovered certain characters as it usually happens through *in vivo* inoculations.

ÍNDICE DE AUTORES DO VOLUME 3

AUTHOR INDEX OF VOLUME 3

ADLER, S., 230
ALENCAR, J. E. de, 175
ALMEIDA, F. de, 111
AMARAL, A. D. F., 91
AMATO *Neto,* V., 71, 99, 143, 263

BARRETTO, M. P., 31
BARRIOS, P. A., 91
BASTOS, C. de O., 127
BIAGI F., F., 29
BRENER, Z., 43

CAMARGO, B., 267
CAMARGO, E. P., 121, 166
CAMPANA, C. L., 85
CAMPOS, R., 143
CARNEIRO, M. das N. R., 166
CASTRO, R. M., 78, 239, 271
CHAIA, G., 181
COUTINHO, A. B., 221
CROCE, J., 143

DAMASCENO, R. G., 61
DEANE, L. M., 15, 61, 107, 149
DEANE, M. P., 107, 148
DIVO, A., 111
DUAILIBE, L., 267

ELKIS, H., 71, 263
ESCUDER, M., 111

FALCÃO, E. C., 103
FAVA *Netto,* 71, 161, 263
FERREIRA *Neto,* A., 213
FERREIRA, H. O., 287
FERRIOLLI *Filho,* F., 9, 51
FIORILLO, A. M., 85
FISHMAN, O., 81, 283
FORATTINI, O. P., 114

GALVÃO, P. A. A., 127
GRABAR, P., 298
GUSMÃO, H. H., 114

HENRIQUEZ, C. E., 91
HOXTER, G., 127

ITURRIZA, L., 111

KLOETZEL, J., 254
KLOETZEL, K., 290
KOWALENKO, W., 91

LACAZ, C. da S., 261, 304
LAURENTI, R., 143
LEAL, H. L., 213
LIBERATORE, R., 267
LONDERO, A. T., 75, 81, 283

MACHADO, J. N., *padre,* 221
MAGALDI, C., 99, 143
MAGALHÃES *fº*, A., 239
MANISSADJIAN, A., 267
MARTINS, C. M., 213
MARTUSCELLI Q., A., 29
MAYRINK, W., 230
MEIRA, J. A., 99
MEMORIA, J. M. P., 181
MONTEIRO, E. V. L., 209
MONTENEGRO, M. R., 127
MORAES, L. L. de, 137

NAVARRETE, F., 29

PEIXOTO, E. S., 267
PELLEGRINO, J., 181
PENA, H. A. O., 267
PEREIRA, O. A., 209

QUEIROZ, R. de, 71, 263

RAMOS, C. D., 75, 81, 283
RAPHAEL, A., 161
REY, D. W., 186
ROTBERG, A., 114

SILVA, G. A. da, 31
SILVA, L. H. P. da, 121, 166
SOLÉ-VERNIN, C., 1
SOUZA, A. R. de, 239, 271

TORREALBA, J. W., 81
TRABULSI, L. R., 267

VERNIN, C. S. *vd.* SOLÉ-VERNIN, C.
VICHI, F. L., 37

ÍNDICE DE ASSUNTOS DO VOLUME 3

SUBJECT INDEX OF VOLUME 3

Amebíase
  diagnóstico, 31
  terapêutica, 99
Ancilostomíase
  epidemiologia, 186
Antibióticos
  griseofulvina, 279
  paromomicina, 99
Ar
  flora micológica, 111
Ascaridíase
  terapêutica, 29

Bilharziose *vd.* Esquistossomose
Blastomicose sul-americana
  diagnóstico, 161
  imunologia, 161

Calazar
  profilaxia, 175
Candida albicans
  morfologia, 283
  parasitismo, 283
Candidíose, 283
Caxumba *vd.* Parotidite epidêmica
Chagas, Moléstia de *vd.* Tripanossomíase
Colibacilos
  tipos sorológicos, 267
Cristal violeta, 254

Dermatites
  etiologia, 114
Dermatófitos, 75, 78, 283
Dermatofitoses
  transmissão, 81
Diarréias
  em crianças, 267
  etiologia, 267

Entamoeba histolytica, 31
Esquistossomose
  epidemiologia, 221
  experimental, 239
  imunologia, 239
Estilomicina, 121, 166
Estreptococos
  cultura, 1
Estrongiloidíase
  diagnóstico, 181

Fezes
  exame, 9, 51
Fígado
  histopatologia, 127
Furazolidona, 143

Geografia médica
  Brasil
    Amazonas, 15, 61, 107
    Ancilostomíase, 186
    Ceará, 175
    Minas Gerais, 78
    Pará, 61
    Rio Grande do Sul, 75, 81, 137
    Santa Catarina, 213
    São Paulo, 78, 267
  Venezuela, 91, 111
Giardíase
  terapêutica, 143
Griseofulvina, 271

Hemocitozoários
  piroplasmídio
    em gambás, 107
  plasmódio
    em morcêgos, 107
Hidatidose, 137

Imunologia, 298
  blastomicose sul-americana, 161
  esquistossomose, 239
  tuberculose pulmonar, 263

Keratinomyces ajelloi, 75

Laboratório
  técnicas, 1, 9, 51, 209
Leishmaniose
  visceral, 91
Lepidópteros, 114

Micologia, 111
Micoses
  blastomicose sul-americana, 161
  candidíose, 283
  tricofitose, 271
Microsporum
  canis, 81
  gypseum, 75, 78
Moluscos
  ecologia, 221
Monocystis chagasi n. sp., 230

Necrológios
  Silva, M. A. Pirajá da, 103
Nitrofurazona, 43, 287

Paromomicina, 99
Parotidite epidêmica, 127
Phlebotomus longipalpis, 230
Piperazina, 29
Planorbídeos
  ecologia, 221
Proteínas
  electroforese, 85
Pulmões, tuberculose *vd.* Tuberculose pulmonar
Puromicina *vd.* Estilomicina

Retossigmoidoscopia, 31

Strongyloides stercoralis, 9, 51

Sulfadiazina, 166

Tétano
experimental, 290
morte no, 290

Tinea capitis
terapêutica, 271

Toxoplasmose
experimental, 121, 166
terapêutica, 121, 166

Triatomíneos
ecologia, 213

Trichophyton violaceum, 271

Tripanossomíase
forma aguda, 37
terapêutica, 287
profilaxia, 254
terapêutica, 43

Tripanossomídeos, 15, 61

Tuberculose pulmonar
diagnóstico, 263

Trypanosoma
conorrhini
biologia, 149
cruzi, 43

Tuberculose pulmonar
imunologia, 71

Varíola, 85

Violeta de genciana, 254